

HABILITATIONSSCHRIFT

Möglichkeiten der Infektabwehr des Neugeborenen und des Feten Evaluierung der diagnostischen Mittel

Zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach

Gynäkologie und Geburtshilfe

Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin
Campus Virchow-Klinikum

Dr. Ulrich Büscher

Prof. Dr. J. W. Dudenhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dietl, Würzburg
2. Prof. Dr. Sohn, Hannover

eingereicht: 21.9.2000

Datum der Habilitation: 15.5.2001

Zusammenfassung

Einleitung und Fragestellung

Ausgehend von einer unspezifischen bakteriellen Infektion kann es während der Schwangerschaft zu einer Infektion der Fruchthöhle kommen. Das volle Bild dieser Art von Infektionen wird Amnioninfektionssyndrom genannt. Die Infektion der Fruchthöhle bedroht Mutter und Kind und die sofortige Entbindung würde ein rasches Abklingen der Infektion des Uterus herbeiführen. Auf der anderen Seite würde häufig eine Entbindung zu einem Zeitpunkt induziert, da das Kind zusätzlich zur Infektion durch die Unreife bedroht ist. Aus der Diagnostik heraus wird die Entscheidung über konservatives oder progressives Vorgehen getroffen. Es stellen sich folgende Fragen:

1. Sind die präpartal erhobenen klinischen Zeichen eines Amnioninfektionssyndromes relevant in der Diagnostik einer konnatal erworbenen neonatalen Infektion?
2. Sind die immunkompetenten Zellen des Neugeborenen in der Lage, inflammatorische Zytokine zu produzieren?
3. Gibt es lösliche Faktoren im Nabelschnurblut, die die Diagnostik einer Infektion des Neugeborenen entscheidend verbessern und die einen Zusammenhang mit einer Infektion der Plazenta aufweisen?
4. Besteht ein Zusammenhang zwischen der präpartalen klinischen Symptomatik eines Amnioninfektionssyndromes und den infektionsabhängigen löslichen Parametern im Nabelblut?

Es wurden zwei prospektive Studien zur Beantwortung der Fragestellung durchgeführt. Im Rahmen der ersten Studie wurden 511 Fälle analysiert. Es fand eine Evaluierung der präpartalen klinischen Parameter bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion und histologisch gesicherte Infektion der Plazenta statt. Die Konzentrationen der Zytokine Interleukin-6, Interleukin-8, Tumornekrosefaktor- α , G-CSF und der laborchemischen Parameter C-reaktives Protein und Procalcitonin wurde im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt bestimmt. Diese Konzentrationen wurden in Bezug gesetzt zu klinischen Anzeichen einer Infektion des Neugeborenen und histologischen Zeichen einer Infektion der Plazenta. Außerdem wurden sie in Bezug gesetzt zu den präpartalen Symptomen eines Amnioninfektionssyndromes.

In einer zweiten Studie wurden 42 Fälle analysiert. Mittels Durchflußzytometrie wurden Zellen aus Vollblut isoliert. Isoliert wurde die T-Zellpopulation CD 4 und CD 8 der Lymphozyten untersucht. Eine intrazytoplasmatische Zytokinbestimmung nach Stimulation mit Ionomycin und Phorbol-12,13-Dibutyrate unter Verwendung von Monensin wurde durchgeführt. Bestimmt wurde die intrazytoplasmatische Zytokinfreisetzung der Zytokine Interleukin-6 und Interleukin-8.

Die präpartalen Symptome mütterliche Temperaturerhöhung, mütterliche CRP-Erhöhung und fetale Tachykardie haben nur eine begrenzte Aussagekraft im Hinblick auf das Ereignis Neonatale Infektion. Während für die präpartal festgestellte fetale Tachykardie und die mütterliche Temperaturerhöhung eine Sensitivität für die „Neonatale Infektion“ von 28,6 % bestimmt wurde, liegt dieser Wert für die präpartale mütterliche CRP-Erhöhung bei 45,5% deutlich höher. Die aus dem Nabelblut isolierten Lymphozyten sind in der Lage, auf eine unspezifische Stimulation hin, Interleukin-8 und Interleukin-6 zu produzieren. Signifikant höher liegt die Sekretion an Interleukin-6 dann, wenn die Kinder mit dem Verdacht auf eine peripartale Infektion geboren wurden oder wenn infektionsrelevante Ereignisse vor der Geburt aufgetreten waren. Von den im Nabelschnurblut untersuchten löslichen Parametern fällt auf, daß Procalcitonin mit einer Sensitivität von 93,3% und einer Spezifität von 73,1% ein sehr zuverlässiger Parameter zur Diagnostik einer neonatalen Infektion darstellt. Mit einer Sensitivität von 58,3% und einer Spezifität von 90,4% hebt sich auch der hochsensitive Nachweis des CRP im Nabelblut noch deutlich von den herkömmlich verwendeten Parametern ab. Nur eingeschränkte Aussagekraft auf das Ereignis „Neonatale Infektion“ hat die Bestimmung des Interleukin-6.

Die kombinierte Betrachtung der präpartal erhobenen klinischen Parameter fetale Tachykardie, mütterliche Temperaturerhöhung und mütterliche CRP-Erhöhung verbessert die vorgeburtliche Diagnostik einer intrauterin bestehenden Infektion deutlich. Der Nachweis der intrazellulären Interleukin-6- und Interleukin-8-Produktion durch neonatale Lymphozyten zeigt die Fähigkeit der zellvermittelten Immunität des Neugeborenen schon vor der Geburt auf bakterielle Infektionen reagieren zu können. Die differenzierte Reaktionsfähigkeit zeigt sich in der gesteigerten Interleukin-6-Syntheseleistung in all den Fällen, die in die „Infektionsgruppe“ eingeschlossen waren. Von den löslichen Infektparametern im Nabelblut sticht das Procalcitonin als sehr zuverlässiger Marker sowohl einer Infektion des Neugeborenen als auch der histologisch gesicherten Infektion der Plazenta hervor.

Auch Interleukin-6 sollte bestimmt werden. Die nachgewiesene Möglichkeit des Neugeborenen, inflammatorische Zytokine in hohen Konzentrationen als Antwort auf eine bakterielle Invasion produzieren zu können, scheint auch die Gefahr in sich zu bergen, durch eben dieses Interleukin-6 eine cerebral schädigende Reaktion zu erfahren. Zur Abschätzung dieses Risikos ist eine Bestimmung des Interleukin-6 im Nabelschnurblut empfehlenswert.

Abstract

Introduction and question

Starting with a nonspecific bacterial infection, during the pregnancy an infection of the amnion can occur. The full expression of this kind of infections is called chorioamnionitis. The infection of the amnion endangers mother and child, and the immediate delivery would produce a quick subsidence of the uterine infection. On the other hand a delivery would frequently be induced at a time when in addition to the infection the child is endangered by prematurity. Out of the diagnostic investigation the decision on conservative or progressive procedure is made. Following questions arise:

1. Are the prepartally ascertained clinical signs of a chorioamnionitis relevant in the diagnosis of a congenitally acquired neonatal infection?
2. Are the immunocompetent cells of the neonate able to produce inflammatory cytokines?
3. Are there soluble factors in the cord blood which decisively improve the diagnosis of an infection of the neonate and show a correlation with an infection of the placenta?
4. Is there a correlation between the prepartal clinical symptoms of an amniotic infection syndrome and the infection-dependent soluble parameters in cord blood?

Two prospective studies were carried out in order to answer the question. Within the scope of the first study 511 cases were analyzed. An evaluation of the prepartal clinical parameters related to the occurrence neonatal infection and histologically established infection of the placenta took place. The concentrations of the cytokines interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor- α , G-CSF and the lab-chemical parameters C-reactive protein and procalcitonin were measured in the cord blood directly after birth. These concentrations were related to clinical signs of an infection of the neonate and histological signs of an amniotic infection. In addition they were related to the prepartal symptoms of an amniotic infection syndrome.

In a second study 42 cases were analyzed. Using flow cytometry cells were isolated from whole blood. The T cell population CD 4 and CD 8 of lymphocytes was isolatedly examined. An intracytoplasmic cytokine analysis after stimulation with Ionomycin and phorbol-12,13-dibutyrate using Monensin was performed. The intracytoplasmic cytokine release of interleukin-6 and interleukin-8 was determined.

The prepartal symptoms maternal elevation of temperature, maternal CRP increase and fetal tachycardia are only poor prognostic predictors with regard to the occurrence neonatal infection. While for the prepartally ascertained fetal tachycardia and the maternal rise of temperature a sensitivity for the "neonatal infection" of 28.6% was determined, for the prepartal maternal CRP increase this value is clearly higher with 45.5%. The lymphocytes isolated from cord blood are able to produce interleukin-8 and interleukin-6 on account of a nonspecific stimulation. The interleukin-6 secretion is significantly higher if the children were born with the suspicion of a peripartal infection or if infection-relevant occurrences were arisen before birth. Regarding the soluble parameters examined from the cord blood, it is remarkable that with a sensitivity of 93.3% and a specificity of 73.1% procalcitonin shows to be a very reliable parameter for diagnosis of a neonatal infection. With a sensitivity of 58.3% and a specificity of 90.4% also the high sensitive detection of CRP in cord blood stands out clearly from the conventionally used parameters. The determination of interleukin-6 has only a limited meaningfulness with regard to the occurrence "neonatal infection".

The combined contemplation of the prepartally measured clinical parameters fetal tachycardia, maternal rise of temperature and maternal CRP elevation clearly improves the antenatal diagnosis of an intrauterine infection. The detection of intracellular interleukin-6 and interleukin-8 production through neonatal lymphocytes shows the capability of cell-mediated immunity of neonate to react to a bacterial infection before birth. The differentiated reactivity is shown in the increased interleukin-6 synthesis in all those cases which were included in the "infection group". Among the soluble infection parameters in cord blood the procalcitonin stands out as a very reliable marker of neonatal infection as well as the histologically established infection of the placenta. Interleukin-6 should also be determined. The proved possibility of the neonate to produce inflammatory cytokines in high concentrations as an answer to a bacterial invasion seems also to involve the risk to experience a cerebrally damaging

reaction through exactly this interleukin-6. For estimation of this risk, an interleukin-6 analysis in cord blood is recommendable.

Schlagwörter:

Immunkompetenz, Fetus, Intrauterine Infektion, Amnioninfektionssyndrom

Keywords:

immune competence, fetus, intruterine infection, chorioamnionitis

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Die Perinatale Infektion	7
1.1.1	Prävention	7
1.1.2	Diagnostik	7
1.1.3	Therapieansätze	8
1.1.4	Problematik	8
1.2	Mütterliche Einflußfaktoren	9
1.2.1	Vaginitis, bakterielle Vaginose	9
1.2.2	Erregerspezifische Vaginitiden	10
1.2.3	Amnioninfektionssyndrom	12
1.3	Infektion der Plazenta	14
1.3.1	Chorioamnionitis	14
1.3.2	Zytokinorkommen in der Plazenta	15
1.4	Problematik der perinatal erworbenen Infektion für das Kind	15
1.4.1	Epidemiologie	15
1.4.2	Abwehrmechanismen des Neugeborenen	17
1.4.3	Diagnostik der peripartalen Infektion	18
1.5	Fragestellung	22
2	Material und Methode	23
2.1	Zusammensetzung der ersten Studiengruppe	23
2.2	Zusammensetzung der zweiten Studiengruppe	23
2.3	Probenasservierung	23
2.4	Dokumentation	23
2.5	Infektionskriterien	24
2.6	Plazentahistologie	24
2.7	Bestimmung der Zytokin-Konzentration mittels ELISA	25
2.8	Bestimmung der anderen Parameter	26
2.9	Intrazelluläre Zytokinbestimmungen	26
2.10	Statistik	29
3	Ergebnisse	30
3.1	Vorgeburtliche Hinweise auf eine Infektion des Feten	48
3.1.1	Fetale Tachykardie	48
3.1.2	Mütterliche Temperaturerhöhung	49
3.1.3	CRP-Konzentration im mütterlichen Serum vor der Geburt	51
3.1.4	Gegenüberstellung der drei präpartalen Parameter	51

3.1.5	Amnioninfektionssyndrom	52
3.2	Intrazellulärer Nachweis inflammatorisch wirksamer Zytokine in Lymphozyten des Neugeborenen	52
3.3	Infektion des Neugeborenen und Infektion der Plazenta – Veränderungen der Konzentrationen von Immunmediatoren im Nabelschnurblut	58
3.4	Infektparameter im Nabelschnurblut unter besonderer Berücksichtigung der präpartalen klinischen Symptomatik	63
4	Diskussion	66
4.1	Evaluierung präpartaler klinischer Infektionsparameter	66
4.2	Aktivierung des zellgebundenen Immunsystems des Neugeborenen	67
4.3	Lösliche Infektparameter im Nabelschnurblut als Zeichen der Immunkompetenz des Feten und als diagnostisches Kriterium	68
4.3.1	Interleukin-6	68
4.3.2	Interleukin-8	69
4.3.3	Tumor-Nekrose Faktor α	70
4.3.4	G-CSF	70
4.3.5	C-Reaktives Protein (hochsensitiv)	71
4.3.6	Procalcitonin	71
4.4	Zusammenhang zwischen präpartaler klinischer Symptomatik und der Infektionsdiagnostik im Nabelschnurblut	72
4.5	Potentielle Gefährdung des Zentralnervensystems des Kindes durch T-Zell-Antwort	73
5	Zusammenfassung	74
5.1	Einleitung und Fragestellung	74
5.2	Material und Methode	75
5.3	Ergebnisse	75
5.4	Diskussion	75

1 Einleitung

1.1 Die Perinatale Infektion

Trotz der medizinischen Entwicklung stellt die unspezifische Infektion des Neugeborenen, neben der peripartalen Hypoxämie, ein erhebliches Problem der Neonatologie dar. Sie bleibt eine der wichtigen Ursachen für die Morbidität und Mortalität der neugeborenen Kinder. Neben der akuten Problematik für an einer Infektion erkrankte Neugeborene ist die Zahl der an den Spätfolgen einer peripartal erworbenen Infektion leidenden Kinder unbekannt. Ebenfalls ungeklärt ist das Ausmaß dieser Langzeitbeeinträchtigungen. Klar ist lediglich, daß für die Neugeborenen eine massive Gefährdung auch durch milde erscheinende Infektionen vor, während und auch nach der Geburt besteht. Diese Infektionen können zu einer erheblichen meist auch cerebral relevanten und damit lebenslang persistierenden Erkrankung führen. Aus diesem Grund muß eine Infektion des Neugeborenen möglichst vermieden werden.

1.1.1 Prävention

Die Prävention der perinatalen Infektion kann nur über die Schwangere erfolgen. Sie gestaltet sich deshalb schwierig, weil es sich nicht um einen monokausalen Krankheitsablauf handelt. Aus einer Fülle sozialer, epidemiologischer, organischer und individueller Risikofaktoren heraus kann es zu einer Besiedlung der Vagina mit pathogenetisch relevanten Mikroorganismen kommen. Diese pathologische Besiedlung allein kann der Ausgang für eine Kaskade sein, an deren Anfang die ascendierende Genitalinfektion und an deren Ende das an einer unspezifischen Infektion erkrankte Neugeborene steht.

Ist eine pathologische Besiedlung der Scheide erkannt, kann es trotz präventiver Maßnahmen zu einer transzervikal ascendierenden Genitalinfektion kommen. Diese sollte bei der Schwangeren rechtzeitig erkannt werden. Denn nur nach der rechtzeitigen Diagnosestellung können therapeutische Maßnahmen eingeleitet werden. Allerdings sind die Symptome einer ascendierenden Genitalinfektion oft unspezifisch, Laborparameter mit einer ausreichenden Sensitivität und Spezifität fehlen. Die aufsteigende Infektion kann über eine Infektion des Chorions und der Dezidua zu einer Infektion des Amnions und letztlich auch der Gebärmutter und des Ungeborenen führen. Die Endomyometritis ist eine schwere Erkrankung des Uterus, die durch die Beteiligung der Nachbarorgane kompliziert werden kann und im Extremfall zur Entwicklung einer lebensbedrohenden Sepsis führen kann. Bei einem solch komplizierten Verlauf stellt die unspezifische Infektion auch ein lebensbedrohliches Ereignis für die Schwangere dar. Aus diesem skizzierten Ablauf wird deutlich, daß der Übergang von der lokal begrenzten Vaginitis zum Amnioninfektionssyndrom erkannt werden sollte, damit sowohl die Gefahr für die Frau abgewehrt werden kann als auch die potentielle Infektion des Ungeborenen vermieden wird.

1.1.2 Diagnostik

In Anbetracht der skizzierten Pathogenese der ascendierenden Infektion scheint es erstaunlich, daß der Großteil der peripartal erworbenen neonatalen Infektionen nicht erkannt wird. Diese diagnostische Lücke ist auf die erst spät einsetzende Symptomatik bei der Schwangeren bzw. der Gebärenden zurückzuführen. Hieraus ergibt sich die Gefahr einer unerkannten unspezifischen Infektion des Neugeborenen.

Die klinischen Symptome der Chorioamnionitis sind, wenn überhaupt vorhanden, unspezifisch und auch die erhobenen Befunde geben nur eine unzureichende Hilfestellung. In den meisten Fällen werden die therapeutischen Entscheidungen von allgemeinen laborchemischen Befunden der Schwangeren wie C-reaktives Protein, Leukozytose und von den Parametern Temperatur der Mutter, fetale Tachykardie, vorzeitige Wehentätigkeit oder Schmerzhaftigkeit der Gebärmutter geleitet. Schon allein die Aufzählung dieser (weichen) Parameter zeigt die Notwendigkeit, laborchemische Parameter hinsichtlich ihrer Aussagekraft zu überprüfen und auch die klinisch erhobenen Befunde auf ihre diagnostische Bedeutung hin zu evaluieren.

Die Neugeboreneninfektion ist nicht sofort zu erkennen. Die unspezifischen Infektionen können dem Geburtshelfer völlig entgehen. Selbst im Frühstadium der Sepsis fehlen bei vielen Patienten typische klinische Erscheinungsbilder. Die klinische Symptomatik variiert stark und reicht von Berührungsempfindlichkeit, Trinkschwäche, Dyspnoe, Durchfall, Hepatosplenomegalie bis hin zu Ödemen. Neben einer Infektion können ebenfalls Erkrankungen des Respirationstraktes, des Herzens, des zentralen Nervensystems, Stoffwechselerkrankungen oder cerebrale Störungen ähnliche Symptome hervorrufen. Die laborchemische Diagnostik ist ebenfalls nicht befriedigend. Leukozytopenie aber auch Leukozytose, Linksverschiebung im Differentialblutbild, Thrombozytopenie, Granulozytose, aber auch Granulozytopenie, Anämie und Erhöhung des C-reaktiven Proteins können

auf eine Infektion hindeuten. Wegen der Schwierigkeiten, neonatale Infektionen schnell zu erkennen, erfolgt eine Therapie häufig erst sehr spät (Erikson-M, 1983).

Eine besondere Situation liegt bei den Frühgeborenen vor. Die Frühgeburt selbst ist in vielen Fällen Folge einer aufsteigenden Infektion des mütterlichen Genitaltraktes. Die frühgeborenen Kinder selbst sind sowohl durch die Frühgeburt und der damit verbundenen Unreife als auch durch eine prä- oder perinatal erworbene Infektion gefährdet. Frühgeborene Kinder entwickeln nicht immer spezifische klinische Zeichen als Antwort auf eine Infektion. Auch die Labordiagnostik ist noch weniger hilfreich als bei den Reifgeborenen. Die Anzahl der Leukozyten und der Thrombozyten kann steigen oder fallen. Somit kann es sogar im Extremfall durch die laborchemische Diagnostik zu einer Verzögerung der klinischen Diagnose führen. Die vorherrschende Praxis ist daher so, daß im Verdachtsfalle einer Infektion großzügig und damit zu häufig eine antibiotische Behandlung indiziert wird. Auch aus diesem Grunde wäre eine Verbesserung der Infektionsdiagnostik der Neugeborenen wünschenswert. Eine Unterscheidung der Verdachtsfälle von den tatsächlich erkrankten Fällen ist mehr als sinnvoll. Laborparameter, die den Vorhersagewert in Bezug auf die Diagnose Infektion in der Gruppe der Frühgeborenen verbessern, sind dringend erforderlich (Philip-AGS, 1980).

Abzugrenzen von den unspezifischen Infektionen im Neugeborenenalter sind die spezifischen Infektionen. Typischerweise treten diese Infektion intrapartal oder sofort in der Neonatalperiode auf. Sie sind die Folge einer vertikalen Transmission pathogener Bakterien vom mütterlichen Genitaltrakt, meist der Streptokokken der Gruppe B (Soman-M, 1985). Diese Erreger können zum Bild der early-onset-Sepsis führen. Die neonatale early-onset-Sepsis ist eine fulminant verlaufende Infektion, die in den ersten sieben Tagen des Lebens auftritt. Sie hat eine Inzidenz von eins bis zehn auf 1000 Lebendgeburten (Klein-JO, 1990).

1.1.3 Therapieansätze

Die Therapieschritte können in jeder Stufe der Kaskade der aufsteigenden Infektion einsetzen. Voraussetzung dafür bleibt die klare Diagnosestellung. Wird die Diagnose Vaginitis bei der Schwangeren gestellt, kann mit einer lokalen antibiotischen Therapie und der nachfolgenden Applikation von Lactobazillen ein physiologischer Zustand wiederhergestellt werden. Die aufsteigende Genitalinfektion und auch das Amnioninfektionssyndrom machen eine systemische antibiotische Therapie der Schwangeren erforderlich. Günstigenfalls ist eine Isolierung des Erregers und die Durchführung einer Resistenzprüfung vor dem Einsatz der Antibiotika möglich und kann bei der Auswahl derselben berücksichtigt werden. Außerdem ist bei der Auswahl der Antibiotika immer an die potentiell teratogene Wirkung von Medikamenten zu denken. Liegt ein ausgeprägtes Amnioninfektionssyndrom vor, kann auch die (frühzeitige) Entbindung der Frau erforderlich werden.

Komplizierter wegen der lückenhaften Diagnostik gestaltet sich die Therapie des Neugeborenen. Besteht eine aufsteigende Infektion oder gar ein Amnioninfektionssyndrom der Gebärenden vor der Geburt, ist die Diagnose einer unspezifischen Infektion des Neugeborenen durch die klinische Situation erleichtert. Schwer ist dagegen die Diagnosefindung in den Fällen, in denen die Mutter nur eine milde oder keine Symptomatik bietet und das Neugeborene primär klinisch unauffällig ist. Hier kann die erforderliche Therapie des Kindes erst spät eingesetzt werden. Aus der Sorge heraus, ein Neugeborenes zu übersehen, welches an einer Infektion bei der Geburt erkrankt ist, werden zu viele Kinder mit der Verdachtsdiagnose auf die neonatalen Intensivstationen verlegt und mit Antibiotika behandelt.

1.1.4 Problematik

Es müssen zwei Zeitabschnitte und zwei Patienten betrachtet werden. Immer gilt es, Frau und (ungeborenes) Kind zu beobachten oder zu behandeln. Der erste Zeitabschnitt ist die Zeit vor der Geburt. Während dieser Zeit erfolgen Prävention, Diagnose und Therapie der unspezifischen Infektion weitgehend über die Mutter. Derzeit existiert kein Serumparallelparameter, der mit großer Aussagekraft diese Form der Infektion beschreibt. Neben der CRP-Konzentration im Serum ist die Bestimmung der fetalen Herzfrequenz und die Symptomatik der Mutter für die Diagnosefindung verantwortlich. In Ermangelung besserer Parameter wird von diesen Symptomen abhängig gemacht, wann die Gefahr einer Infektion für die Frau oder das Ungeborene so groß ist, daß therapeutische Maßnahmen ergriffen werden müssen. Diese bedeuten meist die Entbindung der Frau. Der zweite Zeitabschnitt beginnt mit dem Einsetzen der zur Geburt führenden Wehentätigkeit. Während der Geburt müssen die infektionsrelevanten Daten auch über die Mutter erhoben werden. Die vorgeburtliche Anamnese, klinische Symptome oder auch Bestimmungen des mütterlichen CRP oder der Leukozyten im Serum weisen mit einer geringen Sensitivität und Spezifität auf eine in Gang befindliche Infektion hin. Gleich nach der Geburt besteht die Möglichkeit, das Kind selbst zu untersuchen. Allerdings sind die

Symptome einer peripartal erworbenen Infektion oft so unspezifisch, daß zu viele Neugeborene mit dem Verdacht auf Infektion auf die neonatale Intensivstation verlegt und antibiotisch behandelt werden. Trotz dieser übervorsichtigen Handlungsweise werden dennoch viele Fälle von Infektion bei Neugeborenen übersehen, da viele Kinder erst einige Stunden nach der Geburt klinische Symptome aufweisen. Dieses Vorgehen weist auf das Fehlen eines gleichsam sensitiven wie spezifischen diagnostischen Parameters hin. Ein bislang stark vernachlässigtes Instrument der Diagnosefindung stellen Untersuchung des Nabelschnurlutes also kindlichen Blutes dar. Dieses ist direkt nach der Geburt des Kindes und dessen Abnabelung leicht zu gewinnen. Die gewonnenen Mengen sind ausreichend, um die für die Neugeborenen üblichen Untersuchungen durchführen zu können. Als Beispiel für eine postpartale Untersuchung aus dem Nabelblut sei die Blutgasanalyse aus eben diesem Blut nach der Geburt aufgeführt. Die Untersuchung des Nabelschnurlutes direkt nach der Geburt wird in der Routine zur Feststellung des Blutgasstatus und damit der Sauerstoffversorgung des Kindes während der Geburt durchgeführt. So kann festgestellt werden, ob das Kind eine geburtsabhängige Azidose durchgemacht hat. Die erforderlichen Therapiemaßnahmen können eingeleitet werden. Außerdem wird durch dieses Screening keine peripartale Azidose des Neugeborenen übersehen. In Bezug auf die Entdeckung einer peripartal erworbenen Infektion des Kindes kann eine solche Nabelblutuntersuchung dann sinnvoll sein, wenn die aus dem Nabelblut erhobenen Parameter sichere Aussagen zur Diagnostik liefern.

Kürzlich veröffentlichte Daten zeigen eine Verbindung zwischen der unspezifischen neonatalen Infektion und zerebralen Beeinträchtigungen des Kindes auf. Die Grundlage für diese schwere Folge der Infektion sind die im Verlauf einer Infektion freigesetzten Zytokine. Diese treffen bei den Neugeborenen, insbesondere bei den Frühgeborenen, auf eine durchlässige Blut-Liquor-Schranke. Das Gehirn der Neugeborenen ist sehr vulnerabel für die toxisch wirkenden Zytokine. Die peripartal erworbene unspezifische Infektion muß als gravierendes und sowohl akut lebensbedrohendes Ereignis als auch als eine Erkrankung mit einer schwerwiegenden, cerebral relevanten Spätmorbidität erkannt und gefürchtet werden.

1.2 Mütterliche Einflußfaktoren

1.2.1 Vaginitis, bakterielle Vaginose

Die Vagina ist physiologisch mit Bakterien besiedelt; es sind dies die Döderlein-Bakterien oder Laktobazillen. Diese Bakterien halten ein saures Milieu der Scheide aufrecht und verhindern damit die Invasion von pathogenen Erregern. Eine Veränderung dieses Milieus kann durch verschiedene Reize hervorgerufen werden. Sozioökonomische Faktoren, Streß, psychosoziale Belastungen, psychosomatische Erkrankungen, die Menstruation, die Schwangerschaft, hormonale Kontrazeptiva aber auch organische Erkrankungen wie spezifische und unspezifische Infektionen, Malignome und morphologische Fehlbildungen werden angelastet, eine Veränderung der Scheidenflora hervorrufen zu können. Diese Vielzahl an Faktoren zeigt, daß die pathogene bakterielle Besiedlung der Scheide, oder auch bakterielle Vaginose genannt, kein monokausales Geschehen ist. Besonders in der Schwangerschaft ist es wichtig, die bakterielle Vaginose rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln. Sie kann die Ausgangssituation für die ascendierende Genitalinfektion sein, als deren Folge vorzeitige Wehen, Frühgeburt oder die Chorioamnionitis stehen können. So ist z.B. bei ca. 50% aller Frauen mit vorzeitiger Wehentätigkeit eine anormale vaginale Besiedlung nachweisbar (Lamont-RF, 1986). Wie kommt es aus der bakteriellen Vaginose heraus zu solch folgenschweren Prozessen? Die pathogenen Bakterien durchwandern den Zervikalkanal und besiedeln den unteren Pol der Fruchtblase. Durch Kollagenolyse kann es dadurch zum vorzeitigen Blasensprung kommen. Entlang des Chorions und in der Dezidua migrieren die Erreger zur Plazenta. Ein Bestandteil der Außenwand der Mikroorganismen, die Lipopolysaccharide, induzieren eine Freisetzung inflammatorischer Zytokine aus Chorion und Dezidua, was wiederum die Sekretion von Prostaglandinen zur Folge hat. Prostaglandine führen im Einklang mit Oxytozin zum Einsetzen von Wehen. So erklärt sich, warum aus einer Veränderung des mikrobiologischen Milieus der Scheide ein Blasensprung oder eine Frühgeburt folgen kann. Schreitet die Entzündung fort, kann es über die Nabelschnur oder auch direkt über das Fruchtwasser zu einer Infektion des Feten kommen. Selbst eine Endometritis oder Myometritis ist denkbar.

Schon allein die Erkennung und Behandlung einer bakteriellen Vaginose in der Schwangerschaft kann das Risiko eines vorzeitigen Blasensprungs, von vorzeitiger Wehentätigkeit und auch einer neonatalen Infektion reduzieren (Faro-S, 1989).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, eine Veränderung des bakteriellen Milieus in der Scheide nachzuweisen. Durch die Verdrängung der physiologisch vorhandenen Döderlein-Bakterien kommt es

zu einer Alkalisierung des Scheidensekretes. Diese Verschiebung des pH-Wertes ist mit einfachen Lackmустreifen im Rahmen der Vorsorgeuntersuchung feststellbar. Es wird sogar die Selbstdiagnostik propagiert: Mit einem einfachen Testsystem können die Schwangeren selbst den pH-Wert im hinteren Scheidengewölbe bestimmen und bei alkalischen Werten ihre Frauenärztin bzw. ihren Frauenarzt aufsuchen (Saling 1998). Neben der pH-Bestimmung findet die Durchführung eines Vaginalabstriches mit sofortiger mikroskopischer Untersuchung des Nativpräparates breite Anwendung. Im Nativbild ist im pathologischen Falle eine Verminderung der physiologischen Bakterienflora feststellbar. Eine Leukozytose ist zu sehen. Veränderungen wie Trichomoniasis oder Pilzhyphen fallen ins Auge.

Die bakterielle Vaginose geht mit einem gehäuften Nachweis an Fibronectin im Vaginalsekret einher. Das Fibronectin wird aus dem unteren Eipol freigesetzt und ist fetalen Ursprunges. Ist der Fibronectintest positiv und kommt es zu einer Frühgeburt vor 32 abgeschlossenen Schwangerschaftswochen, wird eine Chorioamnionitis als Korrelat einer aufsteigenden Infektion häufig nachgewiesen. Ein positiver Nachweis fetalen Fibronectins führt zu einem deutlich gehäuften Auftreten einer klinischen Chorioamnionitis (Faktor 16) und einen sechsfachen Anstieg der Fälle an neonataler Sepsis auf. Es gibt also einen evidenten Zusammenhang zwischen einer bakteriellen Vaginose, dem vaginalen fetalen Fibronectinnachweis und einer Infektion des Genitaltraktes (Goldenberg-RL, 1996).

Veränderungen der Konzentration spezieller Zytokine wie $\text{TNF-}\alpha$ und Interleukin-6 im Vaginalsekret können auf ein erhöhtes Risiko für Frühgeburten hinweisen (Inglis-SR, 1994). Bei diesen Verfahren steht nicht die Erkennung der bakteriellen Vaginose im Vordergrund. Gesucht wird ein Test, der mit hoher Sensitivität und Spezifität das Ereignis „Frühgeburt“ prognostizieren kann.

1.2.2 Erregerspezifische Vaginitiden

Neben der unspezifischen bakteriellen Besiedlung der Scheide ist auch die Invasion von spezifischen Erregern von immenser klinischer Bedeutung. Die Trichomoniasis sei hier als erstes Beispiel angeführt. Die Prävalenz des *Trichomonas vaginalis* beträgt 12,6%. Das Vorhandensein dieses Keimes ist signifikant assoziiert mit einem niedrigen Geburtsgewicht (odds ratio 1,3) bzw. mit einer Frühgeburt (odds ratio 1,3) (Cotch-MF, 1997). Dieses Beispiel zeigt, welche verheerenden Auswirkungen die Infektion der Scheide mit Trichomonaden haben kann. Hier ist es häufig nicht der Erreger an sich, der zu den Folgeerkrankungen führt. Die Trichomonaden bereiten nur die Veränderung des Scheidenmilieus vor, die die Voraussetzung für die aufsteigende Infektion ist.

Ein besonderes Gewicht kommt der Besiedlung der Scheide mit β -hämolyisierenden Streptokokken zu. Der Nachweis von β -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe B kurz vor der Geburt gelingt in 22% aller Schwangeren mit Blasensprung und in 11,3% ohne Blasensprung (Itakura-A, 1996). In den Fällen eines vorzeitigen Blasensprunges mit Streptokokkenbesiedlung sind in 28,6% aller Geburten Anzeichen einer Infektion des Neugeborenen nachweisbar. Ist die Blase noch intakt und Streptokokken nachweisbar, reduziert sich der Anteil auf 8,8% (Itakura-A, 1996). Hämolyisierende Streptokokken der Gruppe B haben eine zell-assoziierte kollagenolytische Eigenschaft. Diese erklärt das gehäufte Auftreten von vorzeitigem Blasensprung bei Frauen mit positivem Streptokokkennachweis in der Schwangerschaft (Jackson-RJ, 1994).

Im Gegensatz zur bakteriellen Vaginose stellt die Streptokokkenzervizitis eine bedrohliche Situation für das Neugeborene durch den Erreger selbst dar. Das Problem ist also nicht nur die durch die Scheideninfektion hervorgerufenen Folgeerkrankung wie Frühgeburt, vorzeitige Wehen oder vorzeitiger Blasensprung, sondern die direkte Infektion des Kindes durch den Erreger.

Das *Ureaplasma urealyticum* ist schon des längeren in der Diskussion, einen ungünstigen Einfluß auf den Schwangerschaftsverlauf und den kindlichen Zustand nach der Geburt zu haben. In einer besonderen Untersuchung wurden nur Frauen untersucht, die als einzigen pathogenen Mikroorganismus eine Kolonisation der Vagina mit *Ureaplasma urealyticum* aufwiesen (Abele-Horn-M, 1997). Eine solche Kolonisation ist verbunden mit einem signifikanten Anstieg einer Amnionitis (2% vs 35%; $p < 0,001$), einer Chorioamnionitis (0% vs 10%; $p < 0,05$), eines vorzeitigen Blasensprunges (12% vs 35%; $p < 0,001$) und einer Frühgeburt (10% vs 41%; $p < 0,001$). Die Kolonisationsrate bei den Neugeborenen stieg von 38% bei den Reifgeborenen bis hin zu 95% bei den sehr früh geborenen Kindern. Die Besiedlung mit diesen Erregern führte zu einem gesteigerten Risiko der Entwicklung eines RDS (9% vs 51%), einer intraventrikulären Blutung (1% vs 7%) und einer bronchopulmonaren Dysplasie (4% vs 17%) bei den Kindern, die unter 1500 g wogen (Abele-Horn-M, 1997). Also stellt auch die isolierte Besiedlung der Vagina während der Schwangerschaft eine Infektionsgefahr für das Kind dar. Diese beiden Beispiele der Infektion der Scheide mit hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe B und mit *Ureaplasma urealyticum* sind stellvertretend für die erregerspezifischen Vaginitiden

aufgeführt worden. Neben der unspezifischen bakteriellen Vaginose können also auch diese erregerspezifischen Vaginitiden für die mögliche Ausbildung einer ascendierenden Genitalinfektion verantwortlich sein.

Als Erreger für eine ascendierende Genitalinfektion kommen fakultativ pathogene Bakterien wie *E.coli*, Enterokokken, *Staphylokokkus aureus*, Streptokokken der Lancefield-Gruppe B, *Chlamydia trachomatis*, *Mobiluncus prevotella*, *Peptostreptokokken* und *Bakterioides* in Frage. Ebenso können die obligat pathogenen Erreger wie Streptokokken der Lancefield-Gruppe A, Listerien und Gonokokken eine ascendierende Genitalinfektion auslösen.

Vorzeitige Wehentätigkeit, vorzeitiger Blasensprung

Amnion und Amnionflüssigkeit schützen das ungeborene Kind vor mechanischen Beeinträchtigungen, vor Austrocknung der Haut, ermöglichen Bewegungen des Kindes und schützen neben vielen weiteren Funktionen vor Infektionen. Ist die Fruchtblase gesprungen, so kann sich eine Infektion ascendierend aus der Scheide heraus entwickeln. Die ascendierende Genitalinfektion ist mit einer Infektion der Plazenta assoziiert. Unterstützt wird diese Hypothese durch mikrobiologische Untersuchungen. Der histologische Nachweis einer Chorioamnionitis im Bereich der Plazenta konnte in fast all den Fällen (94%) erbracht werden, in denen das Amnion mit gramnegativen Enterokokken besiedelt war. Bei Nachweis anderer Mikroorganismen wurde der histologische Nachweis einer Chorioamnionitis in 54% erbracht und waren keine Mikroorganismen an der Eihaut kultivierbar, so war nur in 4% der untersuchten Fälle eine Chorioamnionitis histologisch nachweisbar. In der Mehrheit waren die amnionisierten Mikroorganismen die gleichen, die in der Vagina isoliert werden konnten (Sherman-DJ, 1997). Mit dieser Studie konnte der Zusammenhang zwischen der Besiedlung der Vagina mit pathogenen Keimen und der Ausbildung einer Amnionitis bzw. Chorioamnionitis erbracht werden. Mikrobiologisch ist damit die Hypothese untermauert, daß eine Aszension der pathogenen Erreger über das Amnion und die Plazenta bis hin zum Kind möglich ist und daß ein Großteil dieser Infektionen auf unspezifische Erreger zurückzuführen ist.

Die klinischen Folgen der Aszension ist die vorzeitige Wehentätigkeit, der vorzeitige Blasensprung und die Frühgeburt. Besonders gefürchtet ist ein Blasensprung vor Erlangung der kindlichen Reife (vor 37 Schwangerschaftswochen). In zwei Drittel aller Fälle dieses so genannten frühen vorzeitigen Blasensprungs entwickelt sich eine Infektion der Fruchthöhle. Gesichert wurde diese Erkenntnis durch Untersuchungen an Fruchtwasser, welches per Amniozentese gewonnen wurde (Averbuch-B, 1995).

Vorzeitige Wehentätigkeit und im ausgeprägten Fall die Frühgeburt sind ebenfalls Folge der ascendierenden Genitalinfektion. Die Chorioamnionitis ist assoziiert mit einem dreifach erhöhten Risiko einer Frühgeburt mit stehender Fruchtblase und einem vierfach erhöhtem Risiko einer Frühgeburt als Folge eines frühen vorzeitigen Blasensprungs (Seo-K, 1992). Der Zusammenhang war lange Zeit unklar. Entscheidende Hinweise zur Klärung der Pathogenese konnte Romero geben. Höhere Konzentration von Prostaglandinen im Fruchtwasser wurden bei den Patientinnen mit vorzeitiger Wehentätigkeit gefunden, die eine Amnionitis aufwiesen. Bei den Frauen mit vorzeitigen Wehen ohne Nachweis einer Infektion lagen die Konzentrationen an Prostaglandinen deutlich niedriger. Prostaglandine wiederum induzieren uterine Kontraktionen und fördern die Reifung der Cervix (Romero-R, 1987). Mit dieser Arbeit konnten zwei Aspekte geklärt werden:

Es gibt Wehen, die nicht infektiös bedingt sind und die nicht zwangsläufig mit einer erhöhten Prostaglandinsekretion einhergehen.

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Infektion des Fruchtwassers mit unspezifischen Erregern und der prostaglandininduzierten Wehentätigkeit. Eine Infektion der Fruchthöhle führt zu Wehentätigkeit.

Den Schlüssel zwischen der Infektion und der Prostaglandinausschüttung stellen die inflammatorischen Zytokine dar. Durch die ascendierenden Bakterien werden inflammatorische Zytokine, vor allem Interleukin-6 und Interleukin-8, durch Chorion und Amnion freigesetzt. Nachfolgend kommt es zur Synthese und Freisetzung von auf das Myometrium tonisierend und kontrahierend wirkenden Prostaglandinen. Neben der funktionell organischen Wirkung fördern die Prostaglandine wiederum die Freisetzung von Oxytozin, was eine Verstärkung der Wehentätigkeit zur Folge hat (Romero-R, 1988). Amnion- und in geringerem Ausmaß auch Deziduaellen werden durch Interleukin-6 stimuliert, Prostaglandin E₂ freizusetzen. (Mitchell-M, 1991). Erhöhte Konzentrationen an Zytokinen, im besonderen Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α sind in der

Amnionflüssigkeit von Patientinnen mit vorzeitigen Wehen gefunden worden, die gleichzeitig eine Infektion des Amnions aufwiesen (Romero-R, 1990).

Neben den bedrohenden Faktoren vorzeitiger Blasensprung, vorzeitige Wehentätigkeit, und Frühgeburt ist das Ungeborene durch die Infektion selbst gefährdet. Denn je länger das Intervall zwischen Blasensprung und Geburt andauert, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion des Kindes. Ohne vorgeburtliche Anzeichen eines Amnioninfektionssyndromes steigt die Inzidenz von Infektionsanzeichen der Neugeborenen auf über 30%, wenn der Blasensprung mehr als 48 Stunden vor der Geburt eintritt (Chua-S, 1995).

Der vorzeitige Blasensprung und insbesondere der frühe vorzeitige Blasensprung ist also ein beträchtlicher pathogenetisch relevanter Baustein in der Entwicklung der aufsteigenden Genitalinfektion hin zur Chorioamnionitis und deren Folgen.

1.2.3 Amnioninfektionssyndrom

Das Amnioninfektionssyndrom faßt alle Symptome zusammen, die infolge einer Infektion der Fruchthöhle auftreten können. Es stellt den Endpunkt der aufsteigenden Infektion dar. Aus der bakteriellen Vaginose bzw. der unspezifischen Vaginitis ist nach Aszension der Bakterien eine Zervizitis mit nachfolgender Chorioamnionitis geworden. In den meisten Fällen treten während dieser Pathogenese zwischenzeitlich die ersten Symptome wie vorzeitige Wehentätigkeit oder vorzeitiger Blasensprung auf. Weitert sich die Chorioamnionitis zu einer Infektion der gesamten Fruchthöhle aus, wird wegen der parallel einsetzenden klinischen Symptomatik vom Amnioninfektionssyndrom gesprochen. Wegen der akuten Gefahr für Mutter und Fetus ist eine schnelle und genaue Diagnostik dieses Krankheitsbildes dringend erforderlich.

Die klinischen Symptome können sich als (vorzeitige) Wehentätigkeit, schmerzhafter Uterus, gesteigerter Tonus der Gebärmutter, erhöhte mütterliche Temperaturen und allgemeines Unwohl- und Schwächegefühl bemerkbar machen. In der Anamnese findet sich fast immer ein vorzeitiger Blasensprung; gelegentlich berichten die Frauen über einen vorbestehenden fötiden Vaginalfluor. Die apparative Diagnostik besteht aus der Ultraschalluntersuchung und dem Kardiotokogramm. Mit Hilfe des Ultraschallgerätes kann nach einem vorzeitigen Blasensprung eine verminderte Fruchtwassermenge im Sinne eines Oligohydramnions oder eines Anhydramnions festgestellt werden. Die Biometrie des Feten gibt im Einklang mit der Regelanamnese Aufschluß über das Gestationsalter und damit die vermutete Reife des Feten. Die sonographisch durchgeführte Zervixlängenmessung gibt Auskunft über den Zustand der Zervix. Das Kardiotokogramm zeigt neben der Wehentätigkeit die fetale Herzfrequenz auf. Beim Vollbild eines Amnioninfektionssyndromes ist eine fetale persistierende Tachykardie von mehr als 150 Schlägen in der Minute feststellbar. Die fetale Tachykardie ist entweder Folge der erhöhten mütterlichen Temperaturen oder zeigt eine fetale Infektion an.

Der klinische Untersuchungsbefund ergibt bei der SpekulumEinstellung häufig die Bestätigung des vorzeitigen Blasensprunges. Es kann fötides oder gar putrides Sekret abgehen. Der Muttermund ist oft geöffnet, die Zervix verkürzt. Es werden Abstriche vom Zervix- und Vaginalsekret entnommen. Der Nachweis von IGFBP-1 sichert den vorzeitigen Blasensprung. Das Nativpräparat kann die lokale Infektion anzeigen. Die mikrobiologische Untersuchung des Zervixsekretes erlaubt eine Identifizierung der pathogenen Erreger, zudem erleichtert ein zusätzlich durchgeführtes Antibiotogramm die Auswahl eines eventuell erforderlichen Antibiotikums. Die an der Ausbildung eines Amnioninfektionssyndromes beteiligten Mikroorganismen sind in der nachstehenden Tabelle (Tab. 1.1.) aufgeführt:

Mikroorganismen bei frühem vorzeitigem Blasensprung

Tabelle 1.1: Nachweis folgender Mikroorganismen im Fruchtwasser bei Patientinnen mit frühem vorzeitigem Blasensprung (Averbuch 1995)

Mikroorganismen	Inzidenz	
	N	%
Mycoplasmen	19	59,3
Ureaplasma ureal.	18	56,2
Escherichia coli	6	18,7
Proteus mirabilis	4	12,5
Staphylococcus coag. neg.	2	6,2
Candida albicans	2	6,2
Streptococcus agal.	2	6,2
Klebsiella	1	3,1
Fusobacteria spp.	1	3,1
Bacterioides frag.	1	3,1

In der Serumdiagnostik ist beim Amnioninfektionssyndrom häufig eine deutliche CRP-Erhöhung feststellbar, eine Leukozytose liegt vor.

Trotz der aufgeführten diagnostischen Maßnahmen ist die frühzeitige Erkennung des Amnioninfektionssyndromes schwer. Der Übergang von der häufig monosymptomatisch verlaufenden lokal begrenzten Chorioamnionitis hin zum Vollbild des Amnioninfektionssyndromes ist fließend, abhängig von der Geschwindigkeit der Ausbreitung. Wird richtigerweise beim frühen vorzeitigen Blasensprung eine antibiotische Therapie der Mutter durchgeführt, kann es zur Verschleierung der Symptomatik kommen. Es ist dringend erforderlich, das Amnioninfektionssyndrom rechtzeitig zu diagnostizieren. Das Vollbild bedeutet eine große Gefahr für Mutter und Kind.

Aus diesem Grund ist eine Evaluierung der Symptome notwendig, die auf ein Amnioninfektionssyndrom hindeuten und in der klinischen Routine den Entscheidungsfindungsprozeß beeinflussen. Mütterliches Fieber sub partu stellt schon isoliert eine Gefährdung für das Ungeborene dar. Es ist häufig ein Zeichen für eine Chorioamnionitis und sollte auch ernst genommen werden, wenn keine weiteren Infektparameter positiv sind (Churgay-CA, 1994).

Eine Erhöhung der CRP-Konzentration im mütterlichen Serum gibt einen Hinweis auf eine beginnende oder bestehende Amnioninfektion (Ohlsson-A, 1990). Eine Verbesserung der Diagnostik der Chorioamnionitis kann durch die in Verdachtsfällen durchgeführte Amniozentese erreicht werden. Allerdings ist dieser Eingriff für diese Indikation nicht unumstritten. Liegt ein Verdacht auf eine Infektion der Fruchthöhle vor, hat in den meisten Fällen der Blasensprung vorzeitig stattgefunden. Es besteht ein Oligo- oder Anhydramnion und der Eingriff wird um ein vielfaches riskanter. Andererseits ist die Aussagekraft dieser Untersuchungen hoch.

Lipopolysaccharide (bakterielle Zellwandbestandteile) steigern die Freisetzung von Interleukin-6 durch die Choriodezidua und durch plazentare Zellen, nicht durch amniale Zellen in einer zeit- und dosisabhängigen Weise (Laham-N, 1996). Der physiologische Konzentrationsanstieg an Interleukin-6 im Fruchtwasser kann also durch bakterielle Toxine weiter gesteigert werden. Die Interleukin-6-Bestimmung im Fruchtwasser läßt damit Rückschlüsse auf die bakterielle Besiedlung des Fruchtwassers zu. Die Interleukin-6-Konzentration im Fruchtwasser lag bei positiver mikrobiologischer Kultur bei 241,8 ng/ml im Gegensatz zu 0,291 ng/ml bei Patientinnen mit negativem Keimnachweis. Die Interleukin-6-Konzentration im Fruchtwasser korreliert außerdem mit der Häufigkeit des Ereignisses Frühgeburt. Damit stellt die Interleukin-6-Bestimmung im Fruchtwasser eine zusätzliche Methode dar, um Infektionen der Fruchthöhle auszuschließen und eine Frühgeburt vorherzusagen. Diese Untersuchungen wurden bei vorzeitiger Wehentätigkeit und stehender Fruchtblase durchgeführt. Der Grenzwert für das Interleukin-6 wurde bei 6,17 ng/ml im Fruchtwasser angegeben. Bei diesem Wert beträgt die Sensitivität für den Nachweis einer positiven Kultur des Fruchtwassers 75 % und die Spezifität 79 %. Ein noch besseres Resultat kann mit der Bestimmung der Glukosekonzentration im Fruchtwasser erreicht werden. Hier liegt bei einer Unterschreitung eines Grenzwertes der Glukose von 12 mg/dl die Sensitivität für das Ereignis positive Amnionkultur bei 83 % und die Spezifität bei 86 % (Coultrip-LL, 1994).

Interleukin-6-Bestimmungen im Fruchtwasser zeigen einer Korrelation der Höhe dieser Interleukin-6-Konzentration mit der Ausbildung einer histologisch gesicherten Chorioamnionitis. Eine Interleukin-6-Konzentration von mehr als 17 ng/ml im Fruchtwasser hat eine Sensitivität von 79% und eine Spezifität von 100% in der Diagnose einer akuten histologisch gesicherten Chorioamnionitis (Yoon-

BH, 1995). Es besteht eine lineare Korrelation zwischen der Interleukin-6-Konzentration im Fruchtwasser und dem Ausprägungsgrad der Chorioamnionitis (histologischer Entzündungsgrad der Plazenta nach Blanc 1961, Negishi-H, 1996).

Ein weiterer Index zur Vorhersage einer neonatalen Infektion ist auch die Höhe der Granulozyten-Elastase im Fruchtwasser. Es wurde von Matsuda der Vorschlag gemacht, die Amniozentese zur Verbesserung der Diagnostik intrauteriner Infektionen dann durchzuführen, wenn die Granulozytenelastase im Zervixsekret erhöht ist und das CRP im Serum angestiegen ist (Matsuda-Y, 1995). Trotz dieser vielversprechenden Diagnostik im Fruchtwasser bilden die klinische Symptomatik und die zur Verfügung stehenden Laborparameter derzeit das Rückgrat in der Diagnostik des Amnioninfektionssyndromes. Eine Evaluierung dieser Parameter ist aus diesem Grund erforderlich.

1.3 Infektion der Plazenta

1.3.1 Chorioamnionitis

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, zwischen der klinischen Diagnose des Amnioninfektionssyndromes und dem histologischen Nachweis der sogenannten Chorioamnionitis zu unterscheiden.

Als morphologisches Substrat des Amnioninfektionssyndromes findet sich makroskopisch eine charakteristische schmutzig-graue Trübung von Chorionplatte und Eihaut. Zusätzlich können miliare Herde auf der Nabelschnuroberfläche oder der Eihaut ausgebildet sein. Die mikroskopisch wichtigen Kennzeichen der infektiös bedingten Amnionentzündung sind der Amniotropismus der Granulozyten und der phasengerechte Ablauf des Entzündungsprozesses (Blanc 1961). Die Erreger des Amnioninfektionssyndromes gelangen bei geöffneter Fruchtblase von der Fruchthöhle her auf die Amnionoberfläche. In den seltenen Fällen eines Amnioninfektionssyndromes bei geschlossener Fruchtblase erfolgt die Erregermigration intra- oder transmembranös vom inneren Muttermund her. Auf den leukotaktischen Reiz der Erregerinvasion reagieren als erste die mütterlichen Granulozyten. Extraplazentar wandern sie aus den Gefäßen der Decidua parietalis sive capsularis in Richtung der Amnionoberfläche und durchdringen nacheinander Dezidua, Chorion laeve und Bindegewebe des Amnions. Intraplazentar sind Granulozyten im subchorialen Raum und Fibrin nachzuweisen, danach greifen sie auf die Chorionplatte über. Diese beschriebene Reaktion findet ausschließlich auf der mütterlichen Seite statt. Sie sind unabhängig vom Zustand der Schwangerschaft. Sie können sich also sowohl bei vitaler Frucht als auch beim toten Kind abspielen. Die Reaktion des Feten auf die Invasion der Erreger äußert sich im Auswandern fetaler Granulozyten aus den Gefäßen der Chorionplatte. Dieser Prozeß beginnt nicht selten herdförmig, beispielsweise infolge einer zonalen Besiedelung der Plazentaoberfläche mit Erregern. Die Ausbreitung erfolgt in Abhängigkeit von Menge und Pathogenität der Erreger. Mütterliche und fetale Granulozyten infiltrieren gemeinsam die Chorionplatte, zerstören sekundär das Amnionepithel und dringen in die Fruchthöhle ein. Die entzündliche Reaktion ist vollständig, wenn fetale Granulozyten auch die Wand der Nabelschnurgefäße durchsetzen und in die Wharton-Sulze infiltrieren. In der Regel ist die Vene zuerst und stärker betroffen, bei anhaltendem Reiz auch die beiden Arterien, die eine stärkere muskuläre Wanddicke aufweisen (Vogel 1992). Es gibt einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung des Amnioninfektionssyndromes und dem morphologischen Vollbild der Amnionentzündung (Dong 1987). Die Chorioamnionitis ist Folge einer bakteriellen Infektion und ist histologisch sehr viel häufiger an Plazentamaterial nach Frühgeburten festzustellen. Auch mikrobiologisch kann dieser Befund untermauert werden. Bei Frühgeburten wurden in 32% Bakterien nachgewiesen und identifiziert. In den meisten Fällen waren β -hämolisierende Streptokokken und Fusobakterien nachweisbar. Desweiteren wurden Peptostreptococcus, Escherischia coli, Bacterioides und Ureaplasmen gefunden (Hillier-SL, 1991).

Wie bei Untersuchungen am Fruchtwasser nachgewiesen, stellen die inflammatorischen Zytokine ein Bindeglied zwischen Infektion und dem klinischen Erscheinungsbild derselben dar. Diese Zusammenhänge sind auf die histologischen Untersuchungen an der Plazenta übertragbar. Der histologische Nachweis einer akuten Inflammation korreliert mit erhöhten Konzentrationen an Interleukin-1, Interleukin-8 und Tumornekrosefaktor im Fruchtwasser (Potter-NT, 1992). Diese Zusammenhänge sind eindeutig auf die lokalen Veränderungen im Zusammenhang mit einer aufsteigenden Infektion zurückzuführen und nicht etwa auf systemische Veränderungen im mütterlichen Organismus. Die histologischen Zeichen einer mütterlichen Inflammation im Amnion und einer fetalen Inflammation in der Nabelschnur haben Bezug zu den kindlichen Serumzytokinkonzentrationen. Keinen Bezug hatten solche Veränderungen zu den mütterlichen Serumzytokinkonzentrationen (Salafia-CM, 1997).

1.3.2 Zytokinvorkommen in der Plazenta

1977 wurde erstmalig berichtet, daß menschliches Plazentagewebe nach der Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden in der Lage ist, einen löslichen Faktor freizusetzen, der die Reifung der granulozytären Vorstufen induziert (Burgess, 1977). Neben diesem Faktor, mit dem wahrscheinlich einer der Chemokine aus der CSF-Gruppe beschrieben worden war, ist die Plazenta in der Lage, eine Vielzahl von Zytokinen oder auch Chemokinen zu sezernieren. Zu ihnen gehören unter anderen Interleukin-1, Interleukin-3, Interleukin-6, GM-CSF, M-CSF und G-CSF (Flynn, Finke and Loftus, 1985, Pollard et al, 1987, Kanzaki et al 1991). Die Freisetzung dieser Faktoren ruft auch in der Plazenta eine Kaskadenreaktion hervor. Lipopolysaccharide und inflammatorische Zytokine im besonderen Interleukin-1-Beta und Tumornekrosefaktor induzieren nachfolgend die Interleukin-6-Produktion durch das Chorion und Deziduazellen (Dudley-DJ, 1992).

Eine der Produktionsstätten sind die Zellen in den plazentaren Villi und im Chorion. Sie sind eine der Hauptquellen für proinflammatorischer Zytokine. Von hier aus besteht auch die Möglichkeit, die fetale Zirkulation zu erreichen (Mitchell-MD, 1993).

Ein weiterer Faktor, der durch die Plazenta produziert wird, ist G-CSF. G-CSF ist ein physiologischer Regulator der Produktion neutrophiler Zellen. Es ist jedoch nicht klar, ob die Plazenta normalerweise G-CSF in utero produziert und wenn, ob die von der Plazenta produzierten G-CSF-Konzentrationen in die granulozytopoetische Regulation des Kindes involviert ist (Li 1996).

1.4 Problematik der perinatal erworbenen Infektion für das Kind

1.4.1 Epidemiologie

Die neonatal erworbene Infektion ist kein seltenes Ereignis. 3,3% aller Neugeborenen weisen Anzeichen einer Infektion auf. Die Zahl entspricht der Infektionsrate in einem Krankenhaus der Regelversorgung in Deutschland. 0,7% aller Kinder erleiden eine Sepsis (Karitzky-D, 1986). Noch wesentlich häufiger tritt die neonatale Sepsis bei sehr frühgeborenen Kindern auf. Hier sind 8-15% aller Kinder betroffen (Alden 1972). Ausgeprägter ist die Problematik in den Entwicklungsländern präsent. Die Inzidenz einer neonatalen Infektion steigt bei sehr niedrig gewichtigen und frühgeborenen Kindern bis zu 20% an. Hiermit verbunden ist ein Anstieg der Mortalität bis auf 50%. Besonders hoch ist die Mortalität, wenn eine bakterielle Meningitis vorliegt (Mc Cracken-GH, 1987). Aber auch schon vor der Geburt sind die Feten durch die Infektion der Fruchthöhle äußerst gefährdet. Bei Spätaborten, Totgeburten und perinatalen Todesfällen ist eine Infektion in 39,4% histologisch nachweisbar (Rudbeck-Roge-H, 1992).

Die neonatale Infektion und auch die neonatale Sepsis kann durch unspezifische Erreger wie Enterokokken oder aber auch durch spezifische Bakterien wie β -hämolysierende Streptokokken, Hämophilus influenza etc. hervorgerufen werden. 8% aller Fälle einer neonatalen Sepsis werden durch Hämophilus influenza verursacht. Dieser Keim wird gewöhnlicherweise vor oder während der Geburt auf das Kind übertragen und ist häufiger nachgewiesen bei Frühgeborenen oder niedrig-gewichtigen Kindern. Es besteht eine hohe Koinzidenz mit einer Genitalinfektion der Mutter und länger zurückliegendem Blasensprung vor der Geburt (Mendoza-JC, 1991).

Es wurde mehrfach die Unterscheidung zwischen neonataler Infektion und Sepsis vorgenommen. Die Ausweitung einer lokal begrenzten oder auf ein Organ beschränkten Infektion zu einer systemischen Antwort wird Sepsis genannt (Balk 1989). Um auch die Fälle zu erfassen, die einen Sepsisverlauf nehmen, ohne von einer Infektion auszugehen, sollte der Begriff „systemic inflammatory response syndrome“ gebraucht werden. Davon abzugrenzen ist der Begriff Infektion: Infektion ist eine inflammatorische Antwort auf die Gegenwart von Mikroorganismen oder die Invasion dieser Organismen auf normalerweise steriles Gewebe. Der Begriff Bakteriämie beschreibt die Gegenwart von vitalen Bakterien im Blut. In der klinischen Praxis sollten für die unterschiedlichen Stadien der Sepsis die folgenden Begriffe verwandt werden. Die Sepsis ist die systemische Antwort auf eine Infektion. Mit schwerer Sepsis ist eine Sepsis verbunden mit Organdysfunktion, Hypoperfusion oder Hypotension gemeint. Der septische Schock umschreibt die Sepsis mit Hypotension trotz adäquater Flüssigkeitssubstitution. Sollte aufgrund der alterierten Organfunktion in akut kranken Patienten die Homöostase nicht ohne Intervention aufrecht erhalten werden können, spricht man vom multiplen Organversagen (Consensus Conference Committee 1992). Diese Definitionen sind für den adulten Organismus formuliert worden, können aber zu einem großen Teil auf die Neugeborenen übertragen werden. Die Diagnose einer Neugeborenensepsis erfordert nach Erikson das Vorhandensein einer positiven Blutkultur, verbunden mit klinischen Zeichen einer Infektion (Erikson 1983).

Welche Faktoren führen nun zu einer Infektion des Feten bzw. des Neugeborenen? Unabhängige Risikofaktoren für die Entstehung einer neonatalen Sepsis sind die Chorioamnionitis, die Frühgeburt,

eine bakterielle Fremdbesiedlung der Vagina und ein verlängertes internes Monitoring des Feten (Yancey-MK, 1996).

Die Ereignisse Frühgeburt und Infektion treten oft gemeinsam auf. Die Chorioamnionitis als Folge der aufsteigenden Genitalinfektion kann der Auslöser für vorzeitige Wehen und einen vorzeitigen Blasensprung sein. Als Folge der Wehen und des Blasensprungs kommt es zur Frühgeburt. Die Frühgeburt ist definiert als eine Geburt vor Vollendung von 37 Schwangerschaftswochen (WHO 1977). Neben der Infektion des Chorions und den beschriebenen Folgen, kann es schon vor der Geburt durch die gleichen Erreger zu einer intrauterinen Infektion des Feten kommen. Daher ist die Kombination zwischen Frühgeburt und neonataler Infektion so gehäuft festzustellen. Die frühgeborenen Kinder sind durch ihre körperliche Unreife bedroht. Der wichtigste Faktor ist die Lungenunreife. Je früher die Kinder geboren werden, desto häufiger ist eine Intubationsbeatmung. Auch die Dauer der Beatmung hängt vom Grad der kindlichen Unreife ab. Von der Beatmungsdauer und der Sauerstoffkonzentration der Beatmung hängen viele die Spätmorbidität verursachende Faktoren ab.

Einer der schwerwiegendsten und für das Leben bedeutsamsten mit der Frühgeburt assoziierten Risikofaktoren ist das Auftreten einer intraventrikulären Blutung. Sie ist bei ca. 40% aller Neugeborenen festzustellen, die unter 35 SSW geboren werden oder weniger als 1500 g bei der Geburt wiegen. Verglichen dazu ist lediglich bei 3-4% aller Neugeborenen mit einem Gestationsalter von mehr als 37 SSW eine intraventrikuläre Blutung feststellbar (Paneth-N, 1990). Die Ursache für diese gravierende Komplikation ist nicht geklärt. Aber sowohl die intraventrikuläre Blutung als auch neurologischen Spätschäden wie ungeklärte Enzephalopathien, Verhaltensstörungen und mentale Retardierung können Folgen einer durchgemachten neonatalen Infektion sein. In einer prospektiven Untersuchung wurden respiratorische Komplikationen der Neugeborenen und Infektionen als unabhängige Variablen identifiziert, die mit periventrikulären-intraventrikulären Blutungen assoziiert sind (Ferrari-B, 1992). Frühgeborene, deren Amnion eine akute Infektion aufweist, haben ein drei- bis vierfach erhöhtes Risiko, eine intraventrikuläre Blutung zu entwickeln (Yoon-BH, 1995). 5% aller Kinder mit einer intraventrikulären Blutung entwickeln eine cerebrale Lähmung (Paneth-N, 1994).

Die pränatale Glukokortikoidgabe zur Förderung der fetalen Lungenreife und die Verbesserung in der Behandlung der sehr frühgeborenen Kinder führte zu einer gesteigerten Überlebensrate dieser extremen Frühgeborenen. Begleitend kann in dieser Gruppe eine hohe Frequenz an Cerebralparesen festgestellt werden. Eine Fallkontrollstudie stellte fest, daß in fallender Reihenfolge die Chorioamnionitis, der lang zurückliegende vorzeitige Blasensprung und die mütterliche Infektion mit dem späteren Auftreten einer Cerebralparese des Kindes assoziiert sind. Umgekehrt haben Kinder von präeklampsischen Müttern ein geringeres Risiko eine Cerebralparese zu entwickeln, ebenso Kinder die ohne Wehentätigkeit geboren wurden. Keinen Einfluß auf das Auftreten einer Cerebralparese hatte eine intrauterine Wachstumsretardierung (Murphy-DJ, 1995). Diese Untersuchung wurde bei Kindern durchgeführt, die eine Frühgeburt erlitten hatten. Infektionen während der Schwangerschaft gehen also mit einem erhöhten Risiko einer Frühgeburt und, bei unreifen Kindern, mit einer erhöhten Rate an Hirnläsionen einher. Diese Hirnläsionen können zu Cerebralparesen führen. Geht von der Infektion auch eine Gefahr für das reifegeborene Kind aus? Wenige Studien haben bislang den Einfluß einer mütterlichen Infektion auf das kindliche Risiko einer Cerebralparese bei normalem Geburtsgewicht der Kinder untersucht. Diese Lücke wurde durch Grether et al. geschlossen. Die Autoren kamen zu sehr interessanten Ergebnissen: Schon allein das Symptom mütterliches Fieber von mehr als 38°C während der Geburt ist verbunden mit einem erhöhten Risiko einer unerwarteten Cerebralparese (odds ratio 9,3) beim reifen Kind. Während in der Kontrollgruppe Anzeichen einer mütterlichen Infektion in 2,9% aller Fälle nachgewiesen wurden, waren in der Gruppe der Kinder mit Cerebralparese in 22% Zeichen einer mütterlichen Infektion nachweisbar. In der Gruppe der Kinder mit einer spastischen Quadriplegie hatten sogar 37% der Mütter Anzeichen für eine Infektion während der Geburt. Hieraus wird geschlossen, daß die intrauterine Exposition gegen eine mütterliche Infektion verbunden ist mit einem deutlichen Anstieg des Risikos einer Entwicklung einer Cerebralparese bei normalgewichtigen Kindern (Grether-JK, 1997).

Wie lassen sich nun diese erheblichen neurologischen Beeinträchtigungen der Kinder erklären? Adinolfi entwickelte als erster die Hypothese, daß Zytokine, die im Zusammenhang mit einer mütterlichen Infektion produziert werden, das sich entwickelnde Gehirn des ungeborenen oder neugeborenen Kindes schädigen können. Sie können sowohl Initiator als auch Unterstützer eines Hirnschadens im kritischen Stadium der Entwicklung des Zentralnervensystems sein (Adinolfi-M, 1993). Die Hypothese wurde durch Leviton ausgeweitet. Leviton fand, daß das TNF- α , welches als Antwort auf eine intrauterine Infektion freigesetzt wird, sowohl zur Frühgeburt, als auch zur

periventrikulären Leukomalazie führt (Leviton-A, 1993). Bestätigt wurde der Zusammenhang zwischen erhöhten Zytokinkonzentrationen und Frühgeburt durch Untersuchungen des Fruchtwassers. Verglichen mit Frauen, die am Termin entbunden wurden, hatten die Frauen, die eine Frühgeburt durchmachten, erhöhte Fruchtwasserspiegel an TNF- α , Interleukin-6 und Prostaglandin-E2 und eine erhöhte Rate einer histologisch nachgewiesenen Chorioamnionitis aufzuweisen (Hillier-SL, 1993). Diese Untersuchung unterstützt also die Ansicht, daß Frühgeburten gehäuft mit Infektionen und der Exposition gegenüber den gefährdenden Zytokinen ausgesetzt sind. Darüber hinaus gibt es einen generellen Zusammenhang zwischen erhöhten Interleukin-6-Konzentrationen im Fruchtwasser und der Entwicklung einer intraventrikulären Blutung bzw. einer periventrikulären Leukomalazie unabhängig vom Gestationsalter bei der Geburt (Figueroa-R, 1996). Dieser Befund wird durch Untersuchungen am Nabelblut und nachfolgenden Ultraschalluntersuchungen bei den Neugeborenen bestätigt. Es besteht eine Beziehung zwischen erhöhten Interleukin-6-Konzentrationen im Nabelblut und der Entwicklung einer persistierenden Echodichte im Gehirn der Neugeborenen mit erhöhter Interleukin-6-Konzentration (Yoon-BH, 1996). Der Zusammenhang zwischen Infektion und potentieller Hirnschädigung wird auch am histologischen Plazentabefund deutlich. Kinder, deren Plazenten eine Infektion aufwiesen, hatten ein um 70% gesteigertes Risiko, eine periventrikuläre Leukomalazie und Ventrikulomegalie zu entwickeln als die Kinder, deren Plazenta keine Infektion aufwiesen (Dammann-O, 1997).

Diese Untersuchungen demonstrieren eindrucksvoll die Gefahr, die nicht nur von der neonatalen Sepsis, sondern auch von der bakteriellen Infektion des Neugeborenen ohne Zeichen einer Sepsis ausgeht. Sollten die oben beschriebenen Studien bestätigt werden, ist die Dauer und das Ausmaß der Exposition des kindlichen Gehirns gegenüber inflammatorischen Zytokinen verantwortlich für die funktionelle Beeinträchtigung der zerebralen Leistung. Fetale und/oder neonatale Infektionen müssen auch aus diesem Grund so früh wie möglich erkannt werden. Nur so kann eine antibiotische Therapie rechtzeitig genug erfolgen und eine Ausweitung zur Sepsis vermieden, die hohe Mortalitätsrate gesenkt und potentielle Spätschäden vermieden werden. Bei einer früh gestellten Diagnose und danach sofort begonnenen Therapie mit zum Beispiel Piperacillin und Cefotaxime kann die Mortalitätsrate als Folge der Sepsis auf 2% gesenkt werden (Simon-C, 1991). Das Auswachsen lokal begrenzter neonataler Infektionen zur Sepsis kann durch die frühe Diagnosestellung vermieden werden, die Ausprägung der Spätschäden wird verhindert oder reduziert.

1.4.2 Abwehrmechanismen des Neugeborenen

Neugeborene, insbesondere Frühgeborene, haben im Verhältnis zu erwachsenen Organismen nur eine eingeschränkte Möglichkeit, sich mit bakteriellen Infektionen auseinanderzusetzen (Christensen 1982). Für die reduzierte Abwehrfähigkeit kommen zwei Gründe in Frage: Das Immunsystem hat zum Zeitpunkt der Geburt, insbesondere der Frühgeburt noch nicht die ausreichende Reife zur Abwehr unspezifischer bakterieller Infektionen erreicht. Eine andere Ursache kann die bis zur Geburt fehlende Auseinandersetzung mit Mikroorganismen sein. Dennoch können die Neugeborenen auf eine prä- oder perinatal erworbene Infektion mit einem Anstieg inflammatorischer Zytokine reagieren. Im Serum von Neugeborenen, die wegen einer Sepsis auf die neonatale Intensivstation verlegt werden, kommt es zu einem Anstieg der Interleukin-6-Konzentrationen. Außerdem sind die Konzentrationen an TNF- α erhöht. Aus diesem Grund wurde vorgeschlagen, zur Verbesserung der Diagnostik einer Sepsis, bei den mit Verdacht auf Sepsis verlegten Kindern Interleukin-6 und TNF- α kombiniert zu bestimmen (de-Bont-ES, 1994). Die Erhöhung dieser Zytokine als Reaktion auf eine Sepsis zeigt eine zellvermittelte immunologische Reaktion auf die bakterielle Infektion. Bestätigt wird dieses Erkenntnis durch Untersuchungen an mononuklearen Zellen aus dem Nabelschnurblut gesunder Neugeborener. Auf einen Stimulationsreiz mit bakteriellen Lipopolysacchariden sind die Zellen in der Lage, Interleukin 6 zu synthetisieren. Die in-vitro-Versuche decken sich mit dem Nachweis erhöhter Interleukin-6-Konzentration im Nabelschnurblut bei Kindern, die von Müttern geboren wurden, die eine Chorioamnionitis aufweisen. Die Kinder sind also schon vor der Geburt in der Lage, auf bakterielle Infektionen zu reagieren. Erhöhte Interleukin-6-Konzentrationen im Nabelschnurblut sind ein guter Marker für eine Chorioamnionitis. Ihre Spezifität in Bezug zur Infektion des Neugeborenen ist allerdings in dieser Studie als unbefriedigend beschrieben worden (Singh-B, 1996).

Mit der Geburt wechselt das Kind aus einer sterilen in eine „kontaminierte“ Umgebung. Die Auseinandersetzung mit den Bakterien aus der Umgebung führt zu einer Aktivierung des kindlichen Immunsystems. Die Faktoren G-CSF und GM-CSF steigern die Anzahl der Granulozyten und Makrophagen und aktivieren sie (Baillie-KE, 1994). Die sogenannte „respiratory-burst activity“ wurde bei den Neutrophilen bestimmt, die vorher mit humanem GM-CSF geprimet wurden. Es ist festzustellen, daß die neonatalen Neutrophilen weniger stark auf das GM-CSF-Priming reagierten als die neutrophilen Zellen Erwachsener. Eine noch ausgeprägtere Reduktion der burst activity war in den

Neutrophilen von frühgeborenen Kindern festzustellen (Jaswon-MS, 1994). Der Unterschied der burst activity zwischen Früh- und Reifgeborenen zeigt einen reifungsabhängigen Immunstatus der Feten auf. Damit wird deutlich, daß frühgeborene Kinder schlechter auf bakterielle Infektionen reagieren können als reifgeborene. Es ist möglich, die Anzahl der immunglobulinsezernierenden Zellen im peripheren Blut festzustellen. Bei Kindern, die keine Infektion während der Geburt durchmachen, werden innerhalb der ersten 5 Lebenstage nur sehr wenige immunglobulinsezernierende Zellen nachgewiesen. Wurde eine Erhöhung dieser Zellen bei der Geburt festgestellt, kann von einer vorher bestandenden intrauterinen Infektion ausgegangen werden. Keine Erhöhung dieser immunglobulinproduzierenden Zellen wurde bei Kindern mit early-onset-Sepsis innerhalb der ersten 5 Lebenstage gefunden. In der zweiten Lebenswoche stiegen diese Zellzahlen deutlich an. Der Nachweis von immunglobulinsezernierenden Zellen direkt nach der Geburt zeigt eine unbehandelte intrauterine Infektion an (Stoll-BJ, 1993). Auch mit dieser Untersuchung wird deutlich gemacht, daß das Immunsystem zum Zeitpunkt der Geburt zwar reif ist, durch den fehlenden Kontakt mit Antigenen aber die Anzahl der immunglobulinierenden Zellen zum Zeitpunkt der Geburt nur sehr gering ist. Der Anstieg als Folge einer neonatalen Infektion zeigt aber die funktionelle Reife des Systems. Zelluläre Defizite sind also vor allem quantitative Defizite. Sowohl die knochenmarksgebundenen Vorstufen der Granulozyten als auch die zirkulierenden Granulozyten selbst sind in ihrer Anzahl zum Zeitpunkt der Geburt deutlich reduziert im Vergleich zu Kindern im Dreimonatsalter (Christensen-R, 1980). Dennoch sind im Vergleich zu reifgeborenen Kindern bei den zu früh geborenen Kindern eine Fülle von immunologischen Mangelfunktionen nachweisbar. Diese Defizite sind auf die Unreife des immunologischen Systems bei Frühgeburten zurückzuführen. Auch wenn bei den Frühgeburten häufig schon in utero ein Kontakt mit Mikroorganismen erfolgt, so findet zwar eine Akzeleration der Entwicklung des Immunsystems durch eben diesen Kontakt statt, die gestationsaltersbedingten Defizite können aber auf diese Weise nicht beseitigt werden. Sie bestehen in einer verminderten Chemotaxis (Sacci-F, 1982). Die Erkennung von Antigenen ist erschwert und die Bewegung der immunkompetenten Zellen hin zum Infektionsgeschehen findet erst spät statt. Die Leukozytenaggregation ist schlechter als bei Reifgeborenen (Krause-PJ, 1982) und die C3bi-Rezeptorexpression ist reduziert (Bruce-MC, 1987). Als funktionelle Störungen der Leukozyten fallen eine verschlechterte Phagozytoseleistung (Harris-MC, 1983) und eine schlechtere bakteriozide Aktivität der Leukozyten (Wright-WC, 1970) auf. Mit diesen Untersuchungen wird deutlich, daß die Frühgeborenen nicht nur durch die Kombination der Faktoren Frühgeburt und Infektion schlechter gestellt sind als die Reifgeborenen. Die aufgezählten reifungsabhängigen Defekte führen auch in ihrer Gesamtheit zu einer reduzierten immunologischen Antwort auf die Infektion. Dennoch kann ebenfalls festgehalten werden, daß Neugeborene in der Lage sind, durch Sekretion von inflammatorischen Zytokinen auf eine bakterielle Invasion zu reagieren. Ungeklärt ist die unterschiedliche Reaktionsmöglichkeit auf Infektionen zwischen Früh- und Reifgeborenen.

1.4.3 Diagnostik der peripartalen Infektion

Die klinischen Zeichen einer neonatalen Sepsis können eine Ateminsuffizienz, mangelhafte Nahrungsaufnahme, Hypothermie, Hypotonie oder Krampfanfälle u.a. sein (Driggers-DA, 1985). Die Aufzählung der Symptome demonstriert, wie unspezifisch eine neonatale Sepsis sich dem Geburtshelfer oder Neonatologen präsentiert. Diese Symptome erscheinen bei unterschiedlichen Erkrankungen im Neugeborenenalter und zeigen, daß Handlungsbedarf zur Verbesserung der Diagnostik besteht. Wegen der Schwere der Erkrankung müssen zur Diagnosefindung zusätzliche Hilfsmittel wie Laboruntersuchungen und mikrobiologische Analysen hinzugezogen werden. Wünschenswert wäre ein Marker, der die Gefahr einer Sepsis anzeigt, bevor diese voll zur Ausprägung gelangt ist. Ist die Sepsis anhand der klinischen Symptomatik schon schwer zu erkennen, so ist eine auf ein Organ begrenzte neonatale Infektion noch um ein Vielfaches schwerer zu diagnostizieren. Bei den unspezifischen lokalisierten Infektionen ist die Klinik auch hinsichtlich der Sensitivität schwach. Die akute Bedrohung durch die neonatale Infektion muß abgewandt, die Entwicklung der Späterkrankungen vermieden werden. Auch subklinisch verlaufende Infektionen sollten so früh wie möglich erkannt werden. Der zusätzliche Einsatz von mikrobiologischer und klinisch-chemischer Diagnostik ist erforderlich. An diese Untersuchungen sind folgende Anforderungen zu richten: Sie müssen die Erkrankung eines Kindes erkennen und identifizieren können. Sie müssen rasch durchführbar sein und reproduzierbare Ergebnisse liefern. Sie sollten der Verlaufskontrolle der Erkrankung dienlich sein und den ökonomischen Rahmen nicht sprengen.

Viele Infektionserkrankungen werden mit dem Nachweis der pathogenen Erreger in den entsprechenden Körperflüssigkeiten oder Organsystemen diagnostiziert. Der Goldstandard in der Diagnostik der neonatalen Sepsis ist die positive Blutkultur (Pourcyrous-M, 1988). Die positive Blutkultur erfüllt die definitorischen Ansprüche an die Sepsis. Ein frühes diagnostisches Mittel ist die Blutkultur allerdings nicht. Die Kultivierung der Mikroorganismen nimmt wertvolle Zeit in Anspruch.

Das positive mikrobiologische Ergebnis hilft aber, die Diagnose zu sichern und antibiotische Maßnahmen nach dem Ergebnis der Resistenzprüfung auszurichten. Die Blutkultur hat also aus diesem Grund seinen festen Platz in der Diagnostik. Dennoch hat ein negatives Ergebnis der Blutkultur nur geringe Aussagekraft. Die Blutkulturen sind trotz des Vorliegens einer Pneumonie, einer Meningitis oder sogar bei generalisiert-bakteriellen Infektionen häufig negativ (Squire-E, 1979).

Bei der Fahndung nach speziellen Erregern steht die Suche nach hämolysierenden β -Streptokokken im Vordergrund. Der frühzeitige Nachweis einer Infektion mit β -hämolysierenden Streptokokken kann u.a. mit der Gramfärbung oder mit der ELISA-Technik durchgeführt werden. Die Sensitivität für den Nachweis von B-Streptokokken liegt mit einem ELISA bei 60%. Wohin gegen die Gramnachweismethode eine Sensitivität von 45% aufweist (Towers-CV, 1990).

Labor: In der klinisch-chemischen Labordiagnostik steht zur Diagnostik von neonatalen Infektionserkrankungen die Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) an der Spitze. C-reaktives Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, welches bei inflammatorischen Prozessen infolge einer Infektion oder einer Verletzung im Serum nachweisbar ansteigt (Pepys 1981). Das CRP hat eine kurze Halbwertszeit von vier bis sechs Stunden (Koy 1974). Zwischen dem Beginn einer Infektion und dem im Serum nachweisbaren Anstieg der CRP-Konzentration besteht eine variable Zeitspanne (Peltola 1988). Die Bestimmungen der CRP-Konzentrationen im Serum sind mittlerweile ein unerlässlicher Parameter zur Verlaufsbeobachtung bei an Sepsis erkrankten Kindern. Shortland führte Untersuchungen bei sehr niedrig gewichtigen Kindern durch, die auf die neonatale Intensivstation verlegt wurden. CRP-Bestimmungen stellen eine hilfreiche zusätzliche Information in der Erkennung der Kinder mit Verdacht auf Sepsis dar. Allerdings ist der prädiktive Wert der CRP-Bestimmung in der präklinischen Phase der Sepsis gering. Serielle Messungen sind bei gesicherter Sepsis sinnvoll. (Shortland-DB, 1990). Bei Untersuchungen an Neugeborenen < 32 SSW wurde die Sensitivität und Spezifität der Parameter CRP, verändertes Blutbild (Leukopenie < 5000/mm³ oder Leukozytose > 20000/mm³) oder eine veränderte Ratio der unreifen zu den reifen Neutrophilen von mehr als 0,2 in Bezug auf eine Infektion der Neugeborenen verglichen. Die Sensitivität des erhöhten CRP's war relativ höher als das abnormale Blutbild, ebenso war die Spezifität, der positive und negative prädiktive Wert einer erhöhten CRP-Bestimmung gegenüber dem veränderten Blutbild erhöht. Zur Diagnostik der neonatalen bakteriellen Infektion sollte sowohl das CRP als auch das Differentialblutbild bestimmt werden (Seibert-K, 1990).

Die CRP-Bestimmung im Serum des Neugeborenen hat keinen Wert in der Frühdiagnose der neonatalen Infektion. Seine Hauptrolle liegt eher in dem Ausschluß oder in der Bestätigung einer Infektion 24 Stunden nach Auftritt eines ersten klinischen Verdachtes. Die klinische Symptomatik geht also einer CRP-Veränderung voraus. 24 Stunden nach dem ersten klinischen Verdacht liegt der positiv prädiktive Wert für ein CRP-Level von mehr als 1 g/dl bei 83% und der negative prädiktive Wert bei 82%. Kein Neugeborenes hat einen Anstieg der CRP-Konzentration bevor eine abnormale I/T-Ratio festgestellt worden war (Mathers-NJ, 1987).

Blutbild: Zur Diagnostik einer Neugeboreneninfektion wird ein Differentialblutbild durchgeführt. Die einmalige Bestimmung eines Differentialblutbildes hat eine schlechte Sensitivität und Spezifität und einen niedrigen positiven und negativen prädiktiven Wert zum Ausschluß einer Sepsis. Es ist sogar gefährlich, sich auf eine einmalige Bestimmung des Differentialblutbildes zum Ausschluß einer Sepsis zu verlassen. 21% der an Sepsis erkrankten Kinder haben in den Blutbilduntersuchungen normale Werte (Rozycki-HJ, 1987). Eine bessere Einschätzung gelingt mit wiederholten Untersuchungen des Blutbildes. Hierfür ist es erforderlich, die Bestimmung des Differentialblutbildes innerhalb von 24 Stunden erneut durchzuführen. Dann erreicht die Betrachtung der I/T-Ratio eine Sensitivität von 100% und hat einen ebenfalls 100% negativen prädiktiven Wert in Bezug auf die β -Streptokokken-Sepsis (Greenberg-DN, 1990). Neben der seriellen Bestimmung des Blutbildes, kann die genauere Analyse der Informationen, die das Blutbild liefert, in der Diagnostik weiterhelfen. Zur Verbesserung der Diagnostik einer neonatalen Infektion mit Hilfe des Blutbildes etablierte Rodwell 1988 einen Score, der sich aus folgenden sieben Punkten zusammensetzt:

- Abnorme Leukozytenzahl
- Abnorme Granulozytenzahl
- Erhöhte Anzahl unreifer Granulozyten
- Veränderte Ratio der unreifen zu reifen Granulozyten, zu Gesamtgranulozyten, zu Gunsten der unreifen
- Verhältnis der unreifen zu reifen Granulozyten $> 0,3$
- Thrombozytenzahl weniger oder gleich 150.000/mm³
- degenerative Veränderungen der Granulozyten

Je höher dieser Score ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer neonatalen Sepsis. Ist der Score kleiner oder gleich 2, besteht eine Sepsis zu weniger als 1%. (Rodwell-RL, 1988).

Zur Verbesserung des Sepsis-Screenings wurden bei Neugeborenen einige weitere Parameter wie das Fibronektin (Gerdes-JS, 1987), die Granulozytenelastase (PMN-Elastase) (Kanayama-N, 1988) und die lymphozytären Oberflächenmarker CD 45 RA/CD45RO und CD 45 RO (Hodge-S, 1998) vorgeschlagen. Allerdings führte die Bestimmung dieser Parameter nicht zur Verbesserung der Diagnostik, so daß sie keinen Einzug in die Routineuntersuchungen fanden.

Zytokinbestimmungen: In jüngster Zeit ist die Rolle der inflammatorischen Zytokine in der Pathogenese der Sepsis erkannt worden. Ihre Konzentration im Serum wird immer häufiger zur Feststellung einer Sepsis und deren Verlauf herangezogen. Auch im Zusammenhang mit der neonatalen Sepsis wird die Bestimmung der Zytokine propagiert. Die Bestimmung der Interleukin-6 Konzentration im Serum Neugeborener dient vor allem der Verlaufsbeobachtung. Es wird vorgeschlagen, serielle Interleukin-6-Bestimmungen bei Kindern mit einer neonatalen Sepsis durchzuführen. Interleukin-6 ist höher konzentriert bei Patienten mit einer late-onset-Infektion. Damit dienen diese seriellen Bestimmungen des Interleukin-6 einer Diskriminierung zwischen einer early-onset- und einer late-onset-Infektion (Panero-A, 1997). Aber nicht nur zur Verlaufsbeobachtung von Sepsisfällen, sondern auch zur Diagnostik neonataler Infektionen überhaupt, kann die Interleukin-6-Bestimmung im Serum hilfreich sein. Buck beschreibt Interleukin-6 als einen sensitiven Parameter zur frühen Diagnostik einer neonatalen bakteriellen Infektion. Die Kombination einer CRP- und Interleukin-6-Bestimmung scheint ideal zu sein, um die neonatale Infektion frühzeitig zu erkennen. Diese Untersuchungen wurden im Serum stationär behandelter Neugeborener auf der Intensivstation, also bei klinischem Verdacht auf eine neonatale Infektion oder Sepsis, durchgeführt (Buck-C, 1994).

Procalcitonin: Neben den schon erwähnten inflammatorischen Zytokinen G-CSF, Interleukin-6, Interleukin-8, TNF- α und dessen Gegenspieler Interleukin-10, sind auch folgende Parameter bedeutend in der zellvermittelten Immunität: C-reaktives Protein, die Granulozytenelastase und das Procalcitonin.

Procalcitonin ist ein aus 116 Aminosäuren zusammengesetztes Protein, das nach posttranslatiionaler Proteolyse in das aktive Hormon Calcitonin überführt wird. Dieses besteht aus 32 Aminosäuren. Die Transformation von Procalcitonin in Calcitonin findet in den C-Zellen der Schilddrüse statt. Sowohl das Hormon als auch sein Propeptid sind beim medullären Schilddrüsencarcinom sowie zahlreichen anderen Tumoren erhöht (Assicot 1993). 1993 wurde der erhöhte Nachweis von Procalcitonin erstmals in Verbindung zu bakteriellen Infektionen gebracht (Assicot 1993). Die Serumkonzentrationen an Procalcitonin korrelieren mit dem Schweregrad der mikrobiellen Invasion und fallen drastisch nach

einer antibiotischen Therapie ab. Der zelluläre Ursprung und der Mechanismus der Procalcitoninproduktion unter septischen Konditionen bleibt unklar. Allerdings ist der Anstieg der Procalcitoninkonzentration nicht mit einem Anstieg der Kalzitronkonzentration assoziiert und tritt auch bei Patienten auf, die eine Thyreodektomie hinter sich haben (Assicot 1993). Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß Procalcitonin im Rahmen schwerer bakterieller Infektionen wie zum Beispiel einer Sepsis (Chiesa et al. 1998), Pneumonie oder Meningitis (Gendrel et al. 1997) bei Kindern und Erwachsenen sowie bei Verbrennungen (Nylen et al. 1995) und Malaria (Davis et al. 1994) hohe Konzentrationen erreicht. Im Rahmen viraler Infektionen und chronisch entzündlicher Erkrankungen wie z.B. bei M. Chron, Colitis ulcerosa oder einem Lupus erythematodes sowie bei akuten Abstoßungsreaktionen nach Transplantation sind die Procalcitonin Konzentrationen im Serum demgegenüber niedrig. Procalcitonin wurde deshalb eine Bedeutung bei differentialdiagnostischen Überlegungen eingeräumt (Brunkhorst et al. 1995; Gendrel et al. 1997; Staehler et al. 1997; De Werra et al. 1997; Eberhard et al. 1997; Raub et al. 1997). Der Nachweis erhöhter PCT Konzentrationen 3 bis 4 Stunden nach Endotoxininjektion legt den Schluß nahe, daß die PCT-Freisetzung in engem Zusammenhang mit der zytokinvermittelten Antwort auf Mikroorganismen steht (Dandona et al. 1997). Die PCT- Erhöhung nach Endotoxininjektion hält 24 Stunden an, wobei die maximale Konzentration nach 6 bis 8 Stunden erreicht wird. Die positive Korrelation der PCT Serumspiegel mit TNF- α , IL-6 und IL-8 Serumspiegeln im Rahmen bakterieller Infektionen unterstützt diese Theorie (Zeni et al. 1994).

Wie von Gramm und Oberhofer dargestellt wurde, korreliert die Höhe des PCT-Spiegels eng mit der Schwere der Infektion (Gramm et al. 1996; Oberhofer et al. 1996). Die PCT Konzentrationen sind bei lokalisierten bakteriellen und viralen Infektionen signifikant niedriger als bei systemischen bakteriellen Infektionen im Rahmen einer Sepsis. Nach antibiotischer Therapie ist ein deutlicher Abfall der Serum PCT-Konzentration zu beobachten. Diese Art von Antwort auf einen bakteriellen Stimulus macht Procalcitonin zu einem potentiellen frühen und sensitiven Marker bei der bakteriellen Sepsis. Sehr hohe Serumkonzentrationen an Procalcitonin werden in all denen Neugeborenen gemessen, die eine mikrobiologisch nachgewiesene oder klinisch diagnostizierte bakterielle Infektion hatten. Diese im Serum von Neugeborenen gemessenen Procalcitoninwerte zeigen den Wert in der frühen Diagnose einer bakteriellen neonatalen Infektion auf (Gendrel 1996). Der Procalcitonintest ist einfach und benötigt nur 20 μ l Plasma. Testergebnisse sind innerhalb von 2 Stunden verfügbar (Gendrel 1996).

Um CRP auch in niedrigeren Konzentrationen bestimmen zu können als die bisher üblich verwendeten Methoden in den klinischen Labors, wurde erstmals 1986 eine neue Methode entwickelt: ein latex-verstärkter Immunoassay mit anschließender photometrischer Bestimmung, eine Modifikation des Latex-Fixnationstest nach Singer und Plotz (1956). Dieser Test wird im Gegensatz zu anderen Assays von keinen nicht-spezifischen Reaktionen begleitet. Des weiteren ist er schneller und sensitiver. Die Messungen rangieren von 0,01 – 3 mg/l, das bedeutet eine höhere Sensivität als die radiale Immunodiffusion, deren untere Messgrenze bei 2 mg/l liegt sowie eine vergleichbare Sensivität wie die Radio-Elekrtoimmunodiffusion, 10 μ g/l. Bei den in den klinischen Labors eingesetzten Methoden liegt die untere Bestimmungsgrenze bei annähernd 10 mg/l (Senju 1986).

Die Unfähigkeit, sich über die Abwesenheit einer Infektion sicher zu sein, gekoppelt mit den unspezifischen Zeichen der lebensbedrohenden Krankheit einer neonatalen Infektion führen zu einem weitverbreiteten Einsatz von Antibiotika. Nur wenige Neugeborene werden von den Intensivstationen entlassen, ohne über Tage oder Wochen Antibiotika erhalten zu haben (Aranda 1976). Es werden also wegen der lückenhaften Diagnostik zu viele Kinder übertherapiert. Andererseits entgehen die subklinischen Verläufe der frühen Diagnostik und werden nicht oder zu spät behandelt. Dieses Dilemma kann nur mit besseren diagnostischen Mitteln gelöst werden. In den meisten Fällen erfolgt die laborchemische Diagnostik nach Aufnahme der Kinder auf die neonatale Intensivstation. Selbstverständlich ist auch hier eine Verbesserung der Diagnostik zu fordern. Eine Ergänzung stellt die Untersuchung des Nabelschnurblutes direkt nach der Entbindung im Kreißsaal dar. In Kombination mit der Anamnese des vorgeburtlichen Verlaufes, könnten auf diese Weise frühere Diagnosefindungen ermöglicht werden.

1.5 Fragestellung

Das Amnioninfektionssyndrom in der Schwangerschaft oder unter der Geburt setzt den Feten intrauterin dem erhöhten Risiko einer bakteriellen Infektion aus. Dabei ist die möglichst frühzeitige Diagnose Voraussetzung für die rechtzeitige antibiotische Therapie oder für die therapeutische Schwangerschafts- bzw. Geburtsbeendigung. Andererseits muß eine aus diesen Gründen iatrogen bedingte Frühgeburt als Risikofaktor in die therapeutischen Überlegungen eingebracht werden.

Das Ereignis, das mit den diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen beim Amnioninfektionssyndrom verhindert werden soll, ist die konnatale neonatale bakterielle Infektion. Unser primäres Ziel war es, verschiedene lösliche Parameter auf ihren Wert in der Prädiktion dieses Ereignisses zu untersuchen. Die Schwierigkeit jeglicher Studie, die Prädiktoren für die neonatale Infektion untersucht, liegt darin begründet, daß durch vorgeburtliche Maßnahmen wie die rechtzeitige Antibiotikagabe oder die Geburtsbeendigung das zu untersuchende Ereignis möglicherweise gerade verhindert wird. Untersuchungen, die ein therapeutisches Eingreifen ausschließen, wären in diesem Sinne ethisch nicht zu rechtfertigen.

Aus diesen Betrachtungen heraus ergeben sich folgende vier Fragestellungen:

1. Sind die präpartal erhobenen klinischen Zeichen eines Amnioninfektionssyndromes relevant in der Diagnostik einer konnatal erworbenen neonatalen Infektion?

Die präpartalen Zeichen für eine intrauterine Infektion sind die „fetale Tachykardie“, die „mütterliche Temperaturerhöhung“, die eine Erhöhung der CRP-Konzentration im „mütterlichen“ Serum oder die Kombination dieser drei Symptome. Diese Symptome sollen untersucht werden auf ihr Verhältnis zu einer klinisch festgestellten Infektion des Kindes und zu einer histologisch gesicherten Infektion der Plazenta.

2. Sind die immunkompetenten Zellen des Neugeborenen in der Lage, inflammatorische Zytokine zu produzieren?

Die Auseinandersetzung des Feten mit einer bakteriellen Infektion kann schon intrauterin erfolgen. Aufgrund der verzögerten Reife der B-Zell gebundenen humoralen Immunität ist das Neugeborene bei der Abwehr bakterieller Infektionen auf die T-Zell vermittelte Abwehrreaktion angewiesen. Hierzu ist die rechtzeitige Produktion und Freisetzung inflammatorischer Zytokine durch den Feten selbst bzw. durch das Neugeborene erforderlich.

3. Gibt es lösliche Faktoren im Nabelschnurblut, die die Diagnostik einer Infektion des Neugeborenen entscheidend verbessern und die einen Zusammenhang mit einer Infektion der Plazenta aufweisen?

Die Diagnostik einer Infektion des Neugeborenen ist vor allem auf die klinische Symptomatik beschränkt. Es gibt keine zuverlässigen Laborparameter, die schon im Kreißsaal die klinisch gestellte Diagnose einer konnatalen Neonatalinfektion sichern helfen. Andererseits haben auf den Intensivstationen der Neonatologie die Bestimmungen des C-Reaktiven Proteins und auch unterschiedlicher Zytokine zur Verlaufsbeobachtung den experimentellen Status überwunden.

4. Besteht ein Zusammenhang zwischen der präpartalen klinischen Symptomatik eines Amnioninfektionssyndromes und den infektionsabhängigen löslichen Parametern im Nabelblut?

Ein intrauterine Infektion kann schon pränatal auf das Ungeborene übertreten. Der Fet wird auf diese Infektion reagieren. Bei einer ausgeweiteten Infektion müßte die klinische Symptomatik des Amnioninfektionssyndromes einhergehen mit einem Anstieg der zu untersuchenden Infektparameter im Nabelblut.

2 Material und Methode

Es wurden zwei prospektive Studien zur Beantwortung der Fragestellung durchgeführt. Im Rahmen der ersten Studie wurden 511 Fälle analysiert. Es fand eine Evaluierung der präpartalen klinischen Parameter bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion statt. Die Konzentration der Zytokine Interleukin-6, Interleukin-8, Tumornekrosefaktor- α , G-CSF und der laborchemischen Parameter C-reaktives Protein und Procalcitonin wurde im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt bestimmt. Diese Konzentrationen wurden in Bezug gesetzt zu klinischen Anzeichen einer Infektion des Neugeborenen und histologischen Zeichen einer Infektion der Plazenta.

In einer zweiten Studie wurden 42 Fälle analysiert. Mittels Durchflußzytometrie wurden Zellen aus Vollblut isoliert. Isoliert wurde die T-Zellpopulation CD 4 und CD 8 der Lymphozyten untersucht. Eine intrazytoplasmatische Zytokinbestimmung nach Stimulation mit Ionomycin und Phorbol-12,13-Dibutyrate unter Verwendung von Monensin wurde durchgeführt. Bestimmt wurde die intrazytoplasmatische Zytokinfreisetzung der Zytokine Interleukin-6 und Interleukin-8.

2.1 Zusammensetzung der ersten Studiengruppe

In einer prospektiven Studie wurde im Kreißsaal der Klinik für Geburtsmedizin der Charité (Campus Virchow Klinikum) in einem Zeitraum von zwei Monaten (1.4.1998 – 31.05.1998) das venöse Nabelschnurblut von allen Neugeborenen (n=511) gesammelt. Dabei wurden alle Einlingsgeburten berücksichtigt, unabhängig von der Vorgeschichte, des Geburtsmodus, des Gestationsalters und eventueller Komplikationen vor oder während der Geburt. 226 Frauen waren Erstpara, 161 Zweitpara und 124 Multipara. Das mittlere Alter der Frauen betrug 28,2 Jahre (Median 29 Jahre). In 397 Fällen wurde das Kind spontan geboren. In 41 Fällen erfolgte die Geburt durch eine Vakuumextraktion, in 2 Fällen durch eine Forceps, in 23 Fällen durch eine primäre Sektio und durch eine sekundäre Sektio in 47 Fällen. Ein Kind wurde vaginal aus Beckenendlage geboren. Mehrlingsgeburten wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.2 Zusammensetzung der zweiten Studiengruppe

Im Zeitraum von April 1998 bis August 1999 wurden von 42 Neugeborenen, geboren im Kreißsaal der Charité, Campus Virchow-Klinikum, Klinik für Geburtsmedizin, Nabelschnurblutproben gesammelt.

Die 21 potentiell infizierten Neugeborenen wurden nach den folgenden Kriterien ausgesucht:

- vorzeitiger Blasensprung länger als 48 Stunden ante partum
- fetale Tachykardie über 160 spm über mehr als 30 min ante partum
- maternales C-reaktives Protein > 2 mg/dl innerhalb der letzten 12 Stunden ante partum
- maternale Temperaturerhöhung >38°C über mehr als 30 min ante partum

Die Einschlusskriterien der oben beschriebenen Gruppe sind für die nichtinfizierten Neugeborenen der Kontrollgruppe die Ausschlusskriterien.

Die Nabelschnur wurde nach der Abnabelung punktiert und daraus 10 ml Blut entnommen, das mit NH₄-Heparin versetzt wurde. Nach der Blutentnahme wurde das Blut bei Raumtemperatur (RT) bis zur Verarbeitung gelagert. Die Aufbewahrungszeit durfte 12 Stunden nicht überschreiten.

2.3 Probenasservierung

Für dieses Verfahren ist vor der Untersuchung ein positives Votum der Ethikkommission eingegangen. Unmittelbar nach der Geburt der Plazenta wurde die Nabelschnur so abgeklemmt, so daß anschließend die sterile Entnahme von ausreichend venösem Blut möglich war. Die Entnahme erfolgte mit Hilfe von heparinbeschichteten Plastikröhrchen. Im Nabelschnurblut wurde die Korrelation zwischen Nabelvene und Nabelarterie hinsichtlich der nachfolgend beschriebenen Parameter untersucht. Deren Konzentrationen korrelieren sehr gut zwischen Nabelarterie und Nabelvene (Smulian-JC, 1997). Diese wurden anschließend für 10 Minuten bei 3000 U mit einer Kühlzentrifuge (Hettich universal/K2s) bei 4°C zentrifugiert, das Serum aliquotiert und anschließend bei -80°C eingefroren. Die Aliquots wurden nummeriert, um den Anforderungen des Datenschutzes zu entsprechen. Aus logistischen und labortechnischen Gründen konnte nicht immer aus jeder Probe jeder Parameter gemessen werden, so daß für die verschiedenen Parameter jeweils eine unterschiedliche Anzahl von Messungen vorliegen kann.

2.4 Dokumentation

Von jeder Geburt wurde ein Protokoll angelegt, das Angaben über die Mutter, die Geburt sowie den

Neugeborenen enthält. In diesem zu diesem Zweck konzipierten Protokollbogen wurden die zu erhebenden Daten numerisch verschlüsselt. Besonderer Wert wurde auf die Dokumentation all der Einflußgrößen gelegt, die im Zusammenhang mit einer eventuellen Infektion des Kindes stehen könnten. Dazu gehört das Gestationsalter (Risikofaktor Frühgeburt, definitionsgemäß bis zur 36 + 6 Schwangerschaftswochen, n=52), die Zeit zwischen Blasensprung und Geburt (Median=2,5 h), die Dauer der Austreibungsperiode (Median=17,5 min.), die Fruchtwasserfarbe (klar n=424, grün n=87), der Geburtsmodus (s.o.) sowie eine erhöhte kindliche Leukozytenkonzentration im Serum (Median=13,5/nl). Die klinischen Daten der Neugeborenen wurden im Falle einer Verlegung des Kindes in die Kinderklinik den Daten der neonatologischen Klinik entnommen.¹ 16 Neugeborene hatten eine klinisch apparente Infektion. Die Daten der Plazentahistologie wurden der Abteilung Paidopathologie, Campus Virchow-Klinikum der Charité entnommen².

2.5 Infektionskriterien

Amnioninfektionssyndrom: Die präpartal und klinisch diagnostizierte Chorioamnionitis wurde dann als gegeben angesehen, wenn folgende Kriterien erfüllt waren: Ein erhöhter mütterlicher CRP-Wert von >2.0 mg/dl (n=31), mütterliches Fieber über 38,0° C während der Geburt (n=16), fetale Tachykardie mit über 150 Schlägen pro Minute über einen Zeitraum von mindestens 60 Minuten (n=29)

Infektion der Plazenta: Histologische Diagnose erfolgte durch den Pathologen.

Infektion des Neugeborenen: Eine Infektion des Kindes liegt nach unserer Studiendefinition dann vor, wenn eine Erhöhung des Plasma-CRPs >2.0 mg/dl und/oder eine Erhöhung der kindlichen Leukozyten > 15000/µl vorliegt, kombiniert mit klinischen Symptomen einer Infektion. Liegt eine positive Blutkultur vor, handelt es sich um eine Sepsis.

2.6 Plazentahistologie

Auf dem Campus Virchow-Klinikum wird die Plazenta histologisch untersucht. Dazu wird ein plazentafernes und ein plazentanahe Stück Eihaut, sowie ein Stück der Plazenta selbst untersucht. Es wird zwischen einer histologisch unauffälligen Plazenta (n=345) und einer Plazenta mit einem Teilbild (n=48) beziehungsweise mit einem Vollbild (n=50) einer Amnioninfektion unterschieden, die in der Regel Folge einer bakteriellen Infektion der Amnionhöhle ist. Auch Hypoxie und Azidose, intrauteriner Mekoniumabgang oder durch Zirkulationsstörungen in den Nabelschnurgefäßen bedingte veränderte Migrationsbedingungen für Leukozyten als mögliche weitere Ursachen leukozytärer Infiltrate werden diskutiert (Vogel 1992). Der häufigste Entstehungsweg einer Chorioamnionitis ist die ascendierende Infektion bei offener Fruchtblase. Die Einteilung erfolgt nach der Ausdehnung und der Dichte der Zellinfiltrate: bei einem Teilbild einer Plazentainfektion vom Amniontyp befinden sich Zellinfiltrate in 2 Regionen: in Eihaut und/oder Chorionplatte (subamnial) und/oder in der Nabelschnur. Bei einem Vollbild befinden sich Zellinfiltrate in 3 Regionen: Eihaut und Chorionplatte und Nabelschnur. Von einem geringem Grad der Infiltratdichte spricht man beim Vorfinden von einzelnen Granulozyten (<5) in einzelnen getrennten Blickfeldern, von einem mittlerem Grad, wenn mehrere Granulozyten in mehreren benachbarten Blickfeldern zu finden sind und von einem starken Grad, wenn man viele Granulozyten in vielen Blickfeldern vorfindet.

Morphologie: Makroskopisch sind Chorionplatte und Eihaut bei der Chorioamnionitis durch das granulozytenreiche Exsudat schmutziggrau bis gelblich getrübt. Bei einigen Erregern können auch miliare Herde auf der Nabelschnuroberfläche oder der Eihaut zu finden sein, beispielsweise bei Pilzen, Listerien und Staphylokokken.

Mikroskopische Kennzeichen sind der Amniotropismus der Granulozyten und der phasengemäße Ablauf des Prozesses (Blanc 1961). Die Erreger gelangen bei offener Blase von der Fruchthöhle oder, bei geschlossener Fruchtblase, intra- oder transmembranös vom inneren Muttermund her auf die Amnionoberfläche. Es kann schon im Frühstadium zu einer Alteration des Amnionepithels mit Zytoplasmaverdichtung, Kernpyknose, Epitheldesquamation und Amnionepithelerosion kommen. Intraplazentar sind Granulozyten im subchorialen Raum nachzuweisen, danach greifen sie auf die Chorionplatte über (bis dahin sind die entzündliche Reaktionen rein mütterlicher Natur). Die

¹ Mit herzlichem Dank an Prof. Dr. Obladen, Direktor der Klinik für Neonatologie, Charité Campus Virchow-Klinikum

² Mit herzlichem Dank an Prof. Dr. Vogel, Leiter Abt. f. Paidopathologie, Charité Campus Virchow-Klinikum

Mitreaktion des Fetus am Entzündungsprozeß äußert sich im Auswandern fetaler Granulozyten aus den Gefäßen der Chorionplatte (Abb. 1a-d). Die entzündliche Reaktion ist vollständig, wenn fetale Granulozyten auch die Wand der Nabelschnurgefäße durchsetzen und in die Wharton-Sulze infiltrieren (Vogel 1992)

Graphische Darstellung des phasenartigen Verlaufs der Chorionamnionitis:

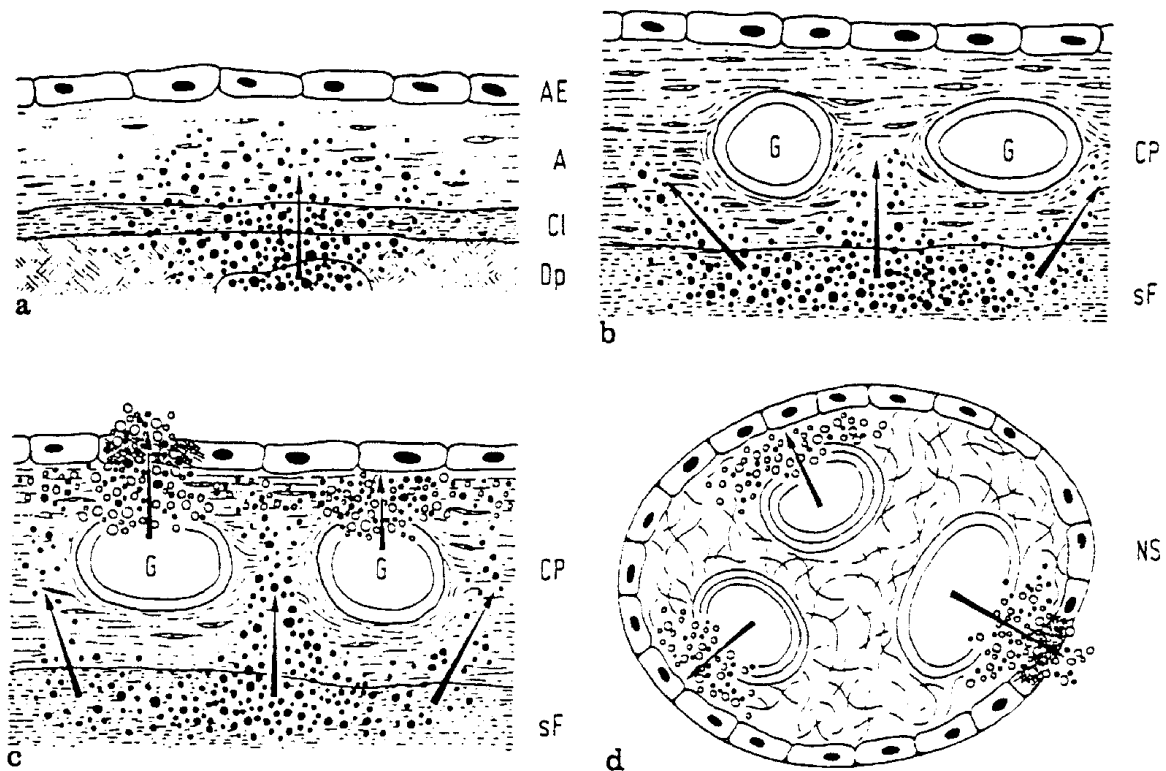


Abb. 1a-d: Entzündung vom Amniontyp. a Amnionitis, b choriale Plazentitis, c choriale Plazentitis mit Vaskulitis, d Omphalovaskulitis/Funikulitis. (AE Amnionepithel, A Bindegewebe des Amnions, CL Chorion laeve, Dp Decidua parietalis, CP Chorionplatte, G fetale Gefäße, sF subchoriales Fibrin, NS Nabelschnur). Aus: Vogel, M. (1992): Atlas der morphologischen Plazentadiagnostik. Springer, Berlin

2.7 Bestimmung der Zytokin-Konzentration mittels ELISA

Folgende Zytokine wurden mittels ELISA bestimmt:

- Interleukin-6
- Interleukin-8
- Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF-alpha)
- Granulozyten-Koloniestimulierender-Wachstumsfaktor (G-CSF)

Durchführung: Das von der postpartal durchgeführten Nabelschnurpunktion gewonnene venöse Nabelschnurblut wird noch in den Heparin-Röhrchen für 10 Minuten bei 3000 U zentrifugiert, anschließend aliquotiert und bei -80°C eingefroren. Am Tage der Konzentrationsbestimmung mittels ELISA werden die einzelnen Aliquots schonend, das heißt von -80° auf -20° , nach ein paar Stunden von -20° auf $+7^{\circ}$, aufgetaut.

Interleukin-8 wird bestimmt mit einem ELISA, der aus Avidin-beschichteten Platten besteht (Lot # 8F3/1, Medgenix) sowie den dazu abgestimmten Reagenzien (Human IL-8 Flexia™, Human IL-8, Catalog # CHC1301, Lot # 83201, Coating Antibody Ms x Hu IL-8 Biotin, Catalog # 58.130.48, Lot # 8H1/1, Clone: 893A6G8 (Ms IgG1), Detection Antibody Ms x Hu IL-8-HRP, Catalog # 58.130.43), Lot # 8H1/1, Clone 790A28G2 (Ms IgG1), Standard Rec. Hu IL-8, Catalog # 58.130.10, Lot # 7H1/1, Biosource International, Camarillo, California, USA). Die Sensivität fast aller Flexia-Produkte (darunter

auch alle hier bestimmten Zytokine) beträgt ungefähr 5 pg/ml (+/- 0,6 pg/ml). Aus Sicherheitsgründen beginnt bei diesen Messungen die Standardreihe bei 10 pg/ml. Dies gilt für alle Zytokine, die mit Hilfe der Biosource-Flexia-Reihe (IL-8, IL-6, IL-10, TNF-alpha) bestimmt wurden.

Interleukin-6 wird bestimmt mit einem ELISA, bei dem folgende Reagenzien verwendet wurden (Human IL-6 Flexia™, Human IL-6, Catalog # CHC1261, Lot # 85102, Coating Antibody Ms x Hu IL-6 Biotin, Catalog # 58.126.48, Lot # 8L2/2, Clone 677B6A2 (Ms IgG1), Detection Antibody Ms x Hu IL-6-HRP, Catalog # 58.126.43, Lot # 8L2/2, Clone 505E23C/ (Ms IgG1), Standard Rec. Hu IL-6, Catalog # 58.126.10, Lot # 8G2/1, Biosource International, Camarillo, California, USA).

Tumor-Nekrose-Faktor-alpha wird bestimmt mit einem ELISA, bei dem folgende Reagenzien verwendet wurden (Human TNF-alpha Flexia, Human TNF-alpha, Catalog # CHC1751, Lot # 91602, Coating Antibody Ms x Hu TNF-alpha Biotin, Catalog # 58.175.48, Lot # 9A3/1, Clone 68B2B3 (Ms IgG2) und 68B6A5 (Ms IgG1), Detection Antibody Ms x Hu TNF-alpha HRP, Catalog # 58.175.43, Lot # 9A3/1, Clone 68B3C5 (Ms IgG1), Standard Rec. Hu TNF-alpha, Catalog # 58.175.10, Lot # 9A3/1, Biosource International, Camarillo, California, USA).

Granulozyten-Koloniestimulierender-Wachstumsfaktor (G-CSF) wird bestimmt mit einem ELISA-Assay (Quantikine™ Human G-CSF Immunoassay, DCS50, Lot # 9907144, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Der Assay ist bis auf 7,0 pg/ml sensitiv mit Intra- und Interassay-Variabilitäten von 1,8 - 2,5 % bzw. 5,1 - 11,9 %.

2.8 Bestimmung der anderen Parameter

- C-reaktives Protein (CRP)
- Procalcitonin (PCT)

Procalcitonin wurde mittels einem Immunolumetrischen Assay (ILMA) gemessen, LUMitest PCT, Bestell # 905402.002, Standard Lot # 984015, Coated Tubes Lot # 991302, Fa. Brahms, Berlin. Folgendes Gerät wurde benutzt: Berthold LB 952, Wildbad, Deutschland, Geräte # 52045. Die analytische Assaysensitivität liegt bei ca. 0,1 ng/ml, der Meßbereich zwischen 0,08 ng/ml und 500 ng/ml.

C-reaktives Protein wurde mit einem turbidimetrischen, Latex-verstärkten, vollautomatischen Immunoassay gemessen.

C-reaktives Protein wurde mit dem Quantex CRP plus-Kit, Fa. Biokit, Barcelona, Spanien, bestimmt. Standard: Cod. 3000-2093, Kontrolle: Cod. 3000-2094, Puffer: Cod. 3000-2084, Antikörper: Latex, Cod. 3000-2204, Lot # E-4098.

Das verwendete Meßgerät war der Cobas Fara II, Roche Diagnostics, Mannheim. Die analytische Sensitivität liegt bei 0,02 ng/dl, der Meßbereich zwischen 0 und 1,00 ng/dl.

2.9 Intrazelluläre Zytokinbestimmungen

1991 haben Sander et al. gezeigt, daß es möglich ist, intrazellulär vorhandene Zytokine nachzuweisen. Darauf aufbauend entwickelten Jung et al. (1993) eine erweiterte Methode unter Verwendung der Durchflußzytometrie. Um Zytokine intrazellulär mit Hilfe der Durchflußzytometrie nachweisen zu können, müssen die zu untersuchenden Zellen zuvor stimuliert werden. Das Prinzip der Methode beruht auf der vierstündigen Stimulation der Zellen bei 37.0°C mit Ionomycin und Phorbol-12,13-Dibutyrate unter Verwendung von Monensin. Ionomycin ist ein Calcium-Kanal Induktor, durch den die Calcium-Konzentration intrazellulär ansteigt, wodurch wiederum Signalkaskaden in Gang gesetzt werden. Phorbol-12,13-Dibutyrate bindet dauerhaft an die Protein-Kinase C und aktiviert damit diesen Signaltransduktionsweg. Monensin blockiert die Sekretion von Glykoproteinen durch den Golgiapparat, dadurch wird verhindert, daß die produzierten Zytokine nach extrazellulär gelangen.

Anschließend werden die Zellen mit zweiprozentigem Paraformaldehyd fixiert. Nach der Fixation werden sie mit 0,1-%igem Saponinpuffer permeabilisiert. In diesem reversiblen membrandestabilisierten Zustand werden die R-Phycoerythrin-konjugierten immunfluoreszierenden Antikörper den Zellen hinzugefügt und im Dunkeln inkubiert. Anschließend wird die Zellmembran stabilisiert und die Oberflächenfärbung durchgeführt.

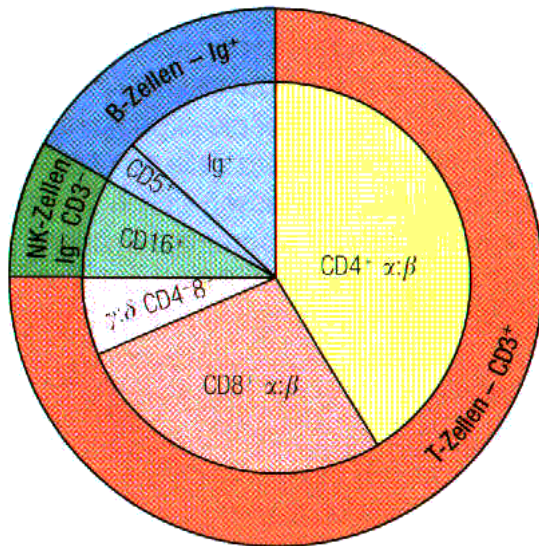


Abb. 2.2.: Die Verteilung der Lymphozyten-subpopulationen im peripheren Blut des Menschen

Da unter der Fragestellung der Entzündungsreize die T-Zellpopulation der Lymphozyten untersucht werden soll, bieten sich die Färbungen nach CD 4 und CD 8 an. Jedoch hat sich in der Erprobung der Methode herausgestellt, daß sich die Färbung nach CD 4 problematisch darstellt. Daher ist man dazu übergegangen nach CD 3 und CD 8 zu färben, um anhand der Differenz von CD 3-positiven und CD 8-positiven auf den Anteil an CD 4-positiven Zellen schließen zu können (Abb. 2.2.).

Die Zellen werden mit PerCPkonjugierten CD 3 Antikörpern und FITC-konjugierten CD 8 Antikörpern im Dunkeln inkubiert. Anschließend wird die Messung am Facscalibur vorgenommen.

Stimulation: Die Schritte der Stimulation werden unter sterilen Bedingungen vorgenommen.

Ansatz der Negativ-Kontrolle: In ein Röhrchen werden 950 µl Zellkulturnährmedium (AIM V und Zusätze) und 100 µl heparinisiertes Blut pipettiert und anschließend gut gemischt.

Stimulationsansatz: In jedes Röhrchen werden 920µl AIM V, 10µl PDB (Phorbol-12,13-Dibutyrate FA Sigma) (10⁻⁵ M/ml), 10µl Ionomycin (50µg/ml), 10µl Monensin (200µM/ml) und 100µl Blut pipettiert und ebenfalls gut gemischt.

Inkubation für 4 Stunden bei 37.0°C im Brutschrank

Ansatz von 2%igem Paraformaldehyd: Im auf 70°C vorgeheizten Wasserbad werden 2g Paraformaldehyd in 10 ml aqua dest. in einem 50 ml Falconröhrchen in 2 Stunden aufgelöst und anschließend mit einem Tropfen 16%iger NaOH versetzt, um eine Aufklärung zu erreichen. In dieser Zeit werden a) 2,2g NaH₂PO₄ und b) 2,5g NaOH in jeweils 100ml aqua dest. aufgelöst und gut gemischt. Von a) werden 83 ml und von b) 17 ml entnommen und gemischt. Davon werden anschließend 90 ml entnommen und mit den 10 ml PFA und 0,5 g Glucose gut vermischt. Abschließend wird der pH-Wert gemessen. Dieser sollte ungefähr im physiologischen Bereich liegen (7,1-7,4).

Fixierung der Zellen: Die Zellen werden mit PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (1x), FA PAA Laboratories GmbH) gewaschen und mit 1500 upm für 5 min mit Bremse abzentrifugiert.

Anschließend wird der Überstand abgesaugt. In jedes Röhrchen wird 1 ml 2 %-iges PFA pipettiert, gut gemischt und für 10 min bei RT inkubiert. Im Anschluß daran wird in gleicher Weise mit PBS gewaschen, abzentrifugiert und abgesaugt.

An dieser Stelle ist es möglich, die Zellen bis zum nächsten Tag ruhen zu lassen. Dafür werden die Zellen in 1 ml PBS resuspendiert, verschlossen und im Kühlschrank gelagert. Zur Weiterverarbeitung werden die Zellen erneut gewaschen, abzentrifugiert und abgesaugt.

Ansatz von 0,1%igem Saponinpuffer: Zur Herstellung von 0,1%igem Saponinpuffer wird zunächst 1g reines Saponin (FA Riedel de Haën GmbH) in 10 ml PBS aufgelöst. Daran anschließend werden davon 3 ml, 3 ml Hepes-Puffer (Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure, Seromed, FA Biochrom KG) und 294 ml PBS gut gemischt.

Permeabilisierung: Nun werden 0,5 ml Saponinpuffer in jedes Röhrchen pipettiert und bei RT 10 min inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wird mit Saponinpuffer aufgefüllt, abzentrifugiert und abgesaugt.

Intrazelluläre Zytokinmarkierung mit immunfluoreszierenden Antikörpern: Zunächst werden in je ein, pro zu markierendes Zytokin, beschriftetes NUNC-Röhrchen 45 µl 0,1-%igem Saponinpuffer und 5 µl des entsprechenden PE-konjugierten Antikörpers (FA Pharmingen: anti-human, PE-konj., 0,1 ml) pipettiert und gut gemischt. Dies entspricht einer 1:10 Verdünnung der Originallösung. Davon werden zu den Zellen in den jeweilige Röhrchen 10 µl verdünnte Antikörper gegeben und gut vermischt. Anschließend werden die Zellen für 20 min bei RT im Dunkeln inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit werden die Zellen einmal mit 0,1-%igem Saponinpuffer und ein weiteres Mal mit PBS gewaschen, abzentrifugiert und abgesaugt.

Oberflächenmarkierung mit immunfluoreszierenden Antikörpern: Anfangs wird aus den Originallösungen der Oberflächenantikörper eine 1:5 Verdünnung hergestellt, indem jeweils 100 µl der FITC-konjugierten CD-8-Antikörper und 100 µl der PerCP-konjugierten CD-3-Antikörper mit 800 µl PBS-acid vermischt werden. Von dieser Verdünnung werden in jedes Röhrchen 50 µl pipettiert, gemischt und für 15 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Zum Abschluß werden die Zellen einmal mit PBS-acid gewaschen, abzentrifugiert und der Überstand abgesaugt.

Messung und Analyse der Daten: Die Messung wird im Anschluß daran am Durchflußcytometer (FacsCalibur, FA Becton Dickinson and Company 1996) durchgeführt. Die gewonnenen Daten werden anschließend auf einer Magneto optical disk gesichert. Das Auswertungsprogramm ist Cell-Quest.

Das Auswertedokument wird geöffnet und die Daten eines Patienten aufgerufen und in die jeweiligen Dot-plots eingefügt.

Zuerst wird ein Dot-plot mit Forward (FSC)- und Sideward (SSC)-Scatter für die Negativkontrolle erstellt, die Lymphocytenpopulation abgegrenzt und gegatet. Die Fluoreszenzen werden in zwei weiteren Dot-plots gegeneinander aufgetragen und anhand daran die Quadrantenmarkierung vorgenommen. Die Quadrantenmarkierungen der Negativ-Kontrolle sollten auf die Dot-Plots der stimulierten Zellen übertragen werden, jedoch ergeben sich Verschiebungen, die mit dieser Übertragung nicht mehr vereinbar sind. In diesen Fällen muß dann von dieser Vorgabe Abstand genommen werden, zumal häufig die Grenzen sehr gut zu erkennen sind.

Als nächstes werden die Daten der stimulierten Proben aufgerufen und eingefügt und differenzierter betrachtet. Zu den obengenannten Dot-Plots kommen zwei Histogramme hinzu, die die Zellen nur anhand ihrer Oberflächenmarkierung charakterisieren. Dort kann man die prozentualen Anteile der jeweiligen Lymphozytensubpopulationen erkennen und durch die Erstellung von weiteren Gates die notwendigen Differenzen bilden, um die CD-8-positive Population der CD3-positiven T-Lymphozyten von der CD-8-negativen Population zu trennen und diese relativ zur Gesamtzahl der detektierten Population prozentual zu quantifizieren.

Sind die jeweiligen Populationen festgelegt, werden die positiven Ereignisse der Fluoreszenzen näher betrachtet und in Relation zu den Subpopulationen gesetzt. Die prozentualen Anteile der CD-3-positiven und gleichzeitig Zytokin-positiven Zellen werden durch die Anteile der gesamten CD-3-positiven Zellen dividiert. Die prozentualen Anteile der CD-8-positiven und CD-8-negativen Zellen, die auch Zytokin-positiv sind werden ebenfalls auf ihre Gesamtpopulationen bezogen. Die errechneten Ergebnisse werden für jeden Patienten einzeln in eine Excel-Datei eingegeben und schließlich in die endgültige SPSS-Datei übertragen.

2.10 Statistik

Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms „SPSS“ (Statistical package for social sciences), Version 6.0 und 8.0 auf einem Pentium-PC (Windows 95) ausgewertet (Bühl 1996). Dabei wurden Unterschiede zwischen 2 Gruppen des einen Parameters nach Wilcoxon und Mann-Whitney errechnet (gilt für stetige Parameter), sowie mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests bei diskreten Parametern.

Bivariate Korrelationen von stetigen Parametern wurden nach Pearsons Produkt-Moment-Korrelation gerechnet, bei diskreten Parametern nach Kendall-Tau-b.

Angegeben wurden immer die Mediane mit den Interquartilen. Eine signifikanter Unterschied zwischen Gruppen bezogen auf ein Merkmal wurde angenommen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5% lag ($p < 0,05$). Es wurde ein Konfidenzintervall von 95% festgesetzt.

Die Erstellung der ROC-Kurven zur Ermittlung der jeweiligen Grenzwerte der jeweiligen Parameter erfolgte mit der Software „GraphROC for windows“, Version 2.0. Es wurden zusätzlich „Microsoft Word for windows 95“, Version 7.0 sowie „Microsoft Power Point for windows 95“, Version 7.0 zur Erstellung der Graphiken benutzt.

3 Ergebnisse

Die im Kapitel Material und Methode beschriebenen beiden Studien führten zu den nachfolgend dargestellten Ergebnissen. Den Ergebnissen vorangestellt ist die deskriptive Statistik beider Studien. Die Ergebnisse sind entsprechend der Fragestellung in vier Abschnitte unterteilt, in denen die Ergebnisse beider Studien aufgeführt sind. Der erste Abschnitt (3.1.) befaßt sich mit der Aussagekraft der präpartalen Parameter hinsichtlich des Ereignisses klinische Infektion des Neugeborenen. Im zweiten Abschnitt (3.2.) werden die Ergebnisse der intrazellulären Zytokinbestimmungen in Lymphozyten Neugeborener dargelegt. Der dritte Abschnitt (3.3.) beschreibt die Konzentrationen löslicher Immunmediatoren im Nabelschnurblut und deren Beziehung zu Infektionen des Neugeborenen. Außerdem werden die Beziehungen dieser Parameter zueinander dargestellt. Im letzten Abschnitt (3.4.) wird die Relation der präpartal festgestellten Infektionsparameter zu den postnatal im Nabelschnurblut bestimmten Immunmediatoren ausgewertet.

Deskriptive Statistik der ersten Studie: Es wurde in den Monaten April und Mai 1998 das Nabelvenenblut in 511 Fällen untersucht. Die Untersuchung fand prospektiv statt. Das mittlere Gestationsalter betrug 39+4 (Median 39+6), das Durchschnittsgewicht 3334,2 g (Median 3360 g). Von den 511 Neugeborenen waren 238 (46,6 %) weiblich und 273 (53,4 %) männlich. Die allgemeinen geburtshilflich relevanten Daten des Untersuchungskollektives entsprechen der Verteilung im Patientenkollektiv der Klinik für Geburtsmedizin; Charité, Campus Virchow-Klinikum und sind in den Tabellen 3.1. bis 3.5. zusammengefaßt.

Geburtsmodus

Tabelle 2.1: Verteilung des Geburtsmodus im Untersuchungskollektiv

	Häufigkeit	Prozent
Spontan	397	77,7
Vakuumextraktion	41	8,0
Forceps	2	0,4
Beckenendlage	1	0,2
Primäre Sectio	23	4,5
Sekundäre Sectio	47	9,2
Gesamt	511	100,0

Lage, Poleinstellung, Stellung, Haltung

Tabelle 2.2: Lage, Poleinstellung, Stellung und Haltung zum Zeitpunkt der Geburt

	Häufigkeit	Prozent
Vordere Hinterhauptslage	430	84,1
Beckenendlage	26	5,1
Hintere Hinterhauptslage	41	8,0
Querlage	1	0,2
Schräglage	9	1,8
Vorderhauptslage	1	0,2
Stirnlage	3	0,6
Gesamt	511	100,0

pH-Wert in der Nabelarterie

Tabelle 2.3: Nabelarterien-pH

	Häufigkeit	Prozent
< 7,00	3	0,6
7,00 - 7,09	16	3,1
7,10 - 7,19	115	22,5
7,20 - 7,29	231	45,2
7,30 und höher	129	25,2
Fehlend	17	3,3
Gesamt	511	100,0

Geburtsdauer

Tabelle 2.4: Zeit zwischen Blasensprung und Geburt

	Häufigkeit	Prozent
weniger als 12 h	367	71,8
12 bis 24 h	41	8,0
24 – 48 h	19	3,7
über 48 h	9	1,8
Nicht eruierbar	75	14,7
Gesamt	511	100,0

Schwangerschaftsdauer

Tabelle 2.5: Verteilung des Gestationsalters zum Zeitpunkt der Geburt

SSW	Häufigkeit	Prozent
bis 27/6	1	0,2
28/0 – 30+6	1	0,2
31+0 – 33+6	12	2,3
34+0 – 36+6	36	7,0
> 37+0	461	90,2

Eine klinische Infektion des Neugeborenen nach den von uns festgelegten Kriterien liegt in 2,8 % aller Fälle (n=14) vor.

In 413 Fällen wurde die Plazenta histologisch auf Anzeichen einer Infektion hin untersucht. Ein Teil- oder Vollbild einer Infektion wurde in 22,1 % aller Fälle nachgewiesen.

Deskriptive Statistik der zweiten Studie

Die Untersuchung umfaßte 21 Fälle und 21 Kontrollen im Rahmen einer prospektiv angelegten Kohortenstudie. Zum Zeitpunkt der Entbindung waren die Frauen (n=42) im Mittel 29,48 Jahre alt (Altersmedian 28,5). Die Geburtsmodi teilten sich auf in Primäre Sectio Caesarea (n=5), Spontanpartus (n=25), Entbindung durch Vakuumextraktion (n=4), Forcepsextraktion (n=1) und die Sekundäre Sectio Caesarea (n=7). 23 Frauen hatten anamnestisch einen Blasensprung, bei 19 Frauen wurde die Fruchtblase instrumentell eröffnet, von allen erlitten 5 einen Blasensprung früher als 48 Stunden vor Geburt. Die mittlere Anzahl der Stunden von Blasensprung bis Geburt betrug 32 Stunden (Min: 0; Max: 720, Median: 8,5). 15 Frauen hatten einen Serum-CRP-Wert über 2 mg/dl. 5 Frauen hatten eine erhöhte Körpertemperatur von über 38°C. Unter den 42 werdenden Müttern waren anamnestisch 5 mit allergischer Disposition. Die mittlere Schwangerschaftsdauer betrug 39,6 SSW (Median).

Von den 42 Neugeborenen (23 Jungen und 19 Mädchen) waren fünf definitionsgemäß Frühgeborene (SSW<37+0). Von allen Kindern wurden 9 anschließend auf die Neugeborenenintensivstation verlegt.

Von den 42 untersuchten Geburten konnten vom Institut für Pathologie, Abteilung Paidopathologie und Plazentologie von Professor Vogel 41 Plazentabefunde erhoben werden. Von diesen waren bezogen auf Entzündungszeichen 28 ohne pathologischen Befund, 6 wiesen ein Minimalbild, 2 ein Teilbild und 5 ein Vollbild einer Amnioninfektion auf.

3.1 Vorgeburtliche Hinweise auf eine Infektion des Feten

Es wurden folgende vorgeburtliche Parameter, die einen Verdacht auf eine Infektion begründeten, untersucht: Tachykardie des Feten, präpartale mütterliche Temperaturerhöhung und präpartale mütterliche Erhöhung der CRP-Serumkonzentrationen.

3.1.1 Fetale Tachykardie

Präpartal wurde in 29 Fällen (5,7%) eine fetale Tachykardie festgestellt. Die Aussagekraft dieses Parameters in Bezug auf das Auftreten einer klinisch apparenten Infektion des Neugeborenen ist begrenzt. Die Sensitivität beträgt 28,6% mit einem positiv prädiktiven Wert von 13,8 %. Die Spezifität ist allerdings mit einem Wert von 95% sehr gut und auch der negativ prädiktive Wert beläuft sich auf 97,9%.

Wird die Aussagekraft der fetalen Tachykardie in Hinsicht auf eine histologisch gesicherte Infektion der Plazenta untersucht, ergeben sich ähnliche Konstellationen. Die Sensitivität ist mit 12,2 % sehr gering und auch der positiv prädiktive Wert ist mit 48% nicht sehr hoch. Hingegen liegen Spezifität (96,2%) und negativ prädiktiver Wert (79,4%) in annehmbaren Bereichen.

Präpartales Symptom: Fetale Tachykardie

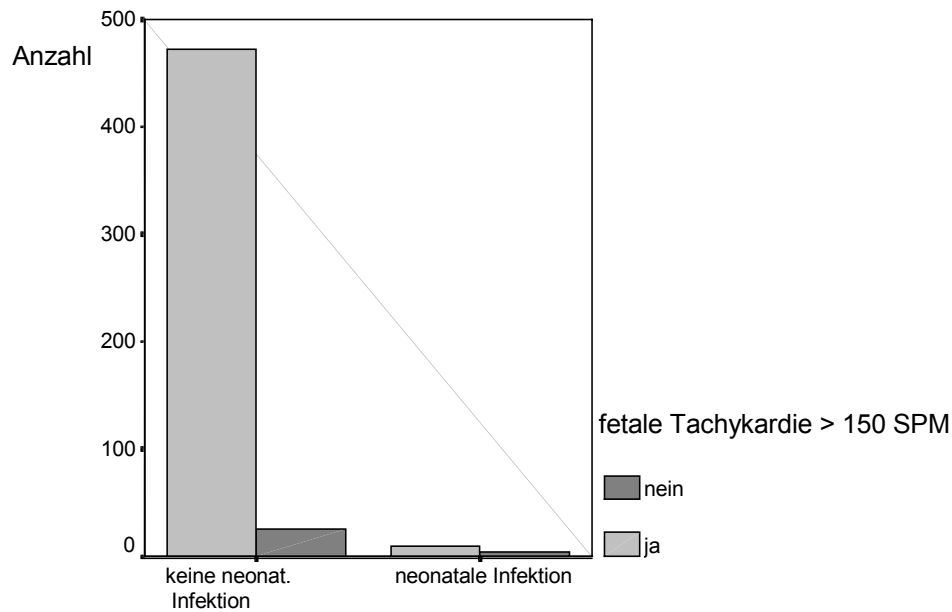


Abb. 3.1: Verteilung des Symptoms fetale Tachykardie zum Ereignis Neonatale Infektion

3.1.2 Mütterliche Temperaturerhöhung

Die präpartale mütterliche Temperaturerhöhung über 38,0 °C ist klinisch ein wichtiger Parameter zur Festlegung des geburtshilflichen Vorgehens bei einem Verdacht auf ein beginnendes Amnioninfektionssyndrom. Mit einer Häufigkeit von 3,1% (n=16) wurde eine solche Temperaturerhöhung präpartal festgestellt. Die Spezifität dieser einfachen Bestimmung beträgt hinsichtlich des Ereignisses „Neonatale Infektion“ 97,6% und auch der negative prädiktive Wert liegt mit 98% sehr hoch. Die geringe Sensitivität (28,6%) und der niedrige positive prädiktive Wert (25%) zeigen die Schwäche dieses Parameters.

Annähernd die gleiche Situation stellt sich bei der Verteilung mütterlicher Temperaturerhöhung und Infektionszeichen an der Plazenta dar. Die Sensitivität beträgt 9,2%, die Spezifität 98 %, der positiv prädiktive Wert liegt bei 56,3 % und der negativ prädiktive Wert bei 79,2%.

Präpartales Symptom: Temperaturerhöhung der Mutter

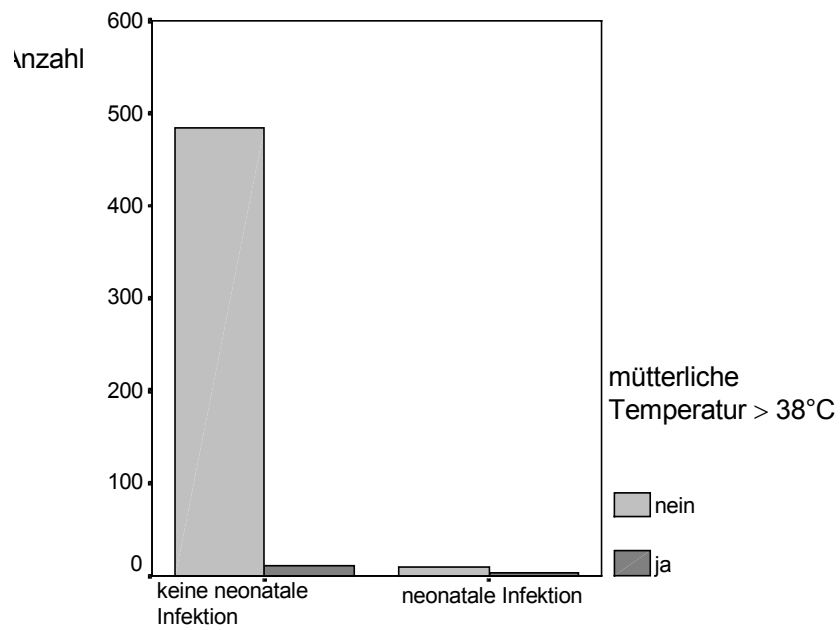


Abb. 3.2: Verteilung des Symptomes präpartale Temperaturerhöhung der Mutter zum Ereignis Neonatale Infektion

3.1.3 CRP-Konzentration im mütterlichen Serum vor der Geburt

Die Bestimmung der Konzentration an CRP im mütterlichen Blut ist nicht Bestandteil von Routineuntersuchungen vor einer Geburt. In den 203 durchgeführten Fällen ergab sich auch keine Verbesserung der Aussagekraft auf eine potentielle Infektion des Kindes. Mit einer Spezifität von 64,4% und einer Sensitivität von 45,5 % enttäuscht auch dieser vorgeburtliche Marker. Diese Berechnungen sind bezogen auf einen Grenzwert des CRP im mütterlichen Serum von 0,8 mg/dl.

Präpartales Symptom: CRP-Erhöhung im Serum der Mutter

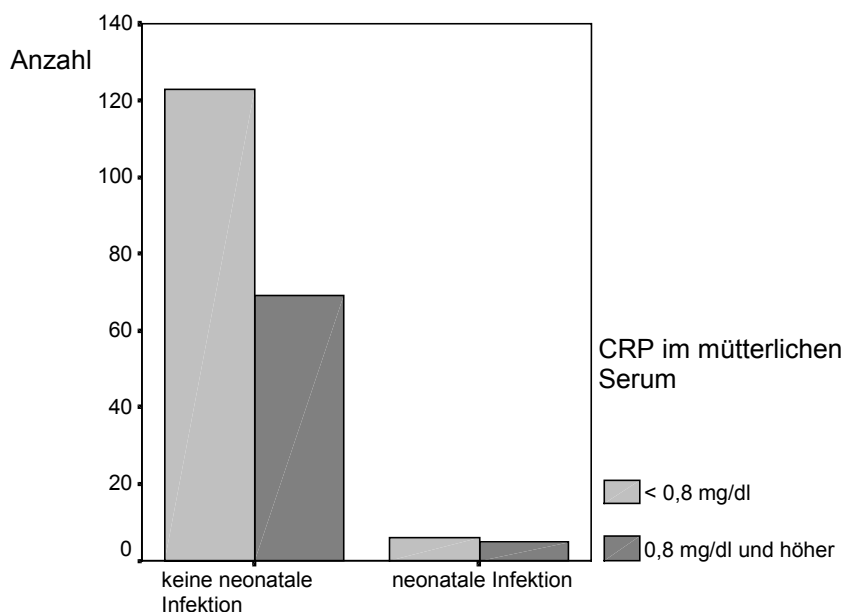


Abb. 3.3: Verteilung des Symptoms Erhöhung der CRP-Konzentration im Serum der Mutter zum Ereignis Neonatale Infektion

3.1.4 Gegenüberstellung der drei präpartalen Parameter

Von den untersuchten Parametern hat die Bestimmung der mütterlichen CRP-Konzentrationen im Serum die größte Sensitivität bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion. Hingegen ist die Spezifität der CRP-Bestimmung gegenüber der fetalen Tachykardie und/oder der mütterlichen Temperaturerhöhung deutlich unterlegen.

Gegenüberstellung der untersuchten präpartalen Parameter

Tabelle 3.6: Vergleich der vorgeburtlichen erhobenen Parameter bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion

	Sensitivität	Spezifität	pos. präd. Wert	neg. präd. Wert
Mütterliche Temperaturerhöhung	28,6%	97,6%	25%	98%
Fetale Tachykardie	28,6%	95%	13,8%	97,9%
Mütterliche CRP-Konzentration	45,5%	64,4%	6,8%	95,3%

3.1.5 Amnioninfektionssyndrom

In der klinischen Praxis wird der Verdacht auf ein Amnioninfektionssyndrom durch die Kombination des Auftretens einer fetalen Tachykardie, einer Erhöhung der mütterlichen Temperatur und einer Erhöhung der CRP-Konzentrationen im mütterlichen Serum geäußert. Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Einzelbetrachtungen der Parameter findet in der konkreten klinischen Situation immer eine gemeinsame Betrachtung statt. Dieser Vergleich mündet dann in die Therapieentscheidung. Zur Objektivierung dieser kumulativen Betrachtungsweise ist nachfolgend eine Analyse durchgeführt worden, bei der entweder einer der Parameter den beschriebenen Grenzwert überschritten hat, zwei oder alle drei positiv waren. Ist mindestens eines der oben beschriebenen drei Kriterien positiv, so beträgt die Spezifität auf das Ereignis kindliche Infektion 58,9% bei einem negativ prädiktiven Wert von 95,6 %. Die Sensitivität beläuft sich auf 54,5 % bei einem positiv prädiktiven Wert von 7,3%. Mit einer Spezifität von 59,5 % (npW=95,6 %) und einer Sensitivität von 54,5 % (ppW=32 %) verhalten sich die Ergebnisse in Bezug auf das Merkmal positive Plazentahistologie in der gleichen Größenordnung.

Bei der Gegenüberstellung der drei untersuchten Gruppen in Tabelle wird der klinische Eindruck bestätigt. Ist nur einer der drei untersuchten Parameter erhöht, so ist die Sensitivität für das Ereignis Neonatale Infektion deutlich höher als wenn zwei oder alle drei untersuchten Parameter positiv sind. Die eingeschränkte Sensitivität geht aber in diesen Fällen mit einer gesteigerten Spezifität einher. Sind alle drei Parameter erhöht, liegt eine Spezifität von 99,5 % vor.

Kombination der präpartalen Infektparameter

Tabelle 3.7.: Vergleich der kombinierten Analyse der präpartalen Infektparameter für eine intrauterine Infektion

	Sensitivität	Spezifität	pos. präd. Wert	neg. präd. Wert	Häufigkeit
Mindestens ein Parameter für ein AiS positiv	54,5%	58,9%	7,3%	95,6%	41,8 %
Mindestens zwei Parameter für ein AiS positiv	36,4 %	89,7%	17,4%	96%	4,5 %
Alle drei Parameter für ein AiS erfüllt	27,3%	99,5%	75%	95,8%	2,0 %

AiS=Amnioninfektionssyndrom

Wenn ein Parameter positiv im Sinne der oben festgelegten Kriterien ist, ist ein positiver Nachweis auch für die anderen beiden Parameter signifikant gehäuft feststellbar (Chi²-Test).

3.2 Intrazellulärer Nachweis inflammatorisch wirksamer Zytokine in Lymphozyten des Neugeborenen

Es handelt sich bei den angegebenen Prozentwerten nur um relative Angaben betreffend der gemessenen Anzahl der Ereignisse. Die zytokinproduzierenden CD3-positiven Zellen werden im folgenden Abschnitt mit „CD3+“ abgekürzt. Die zytokinproduzierenden CD8-positiven Zellen werden mit „CD8+“, die sich auf die gesamte CD3-positiven Zellen beziehen, vereinfacht. Weiterhin werden die prozentualen Anteile der zytokinproduzierenden CD8-positiven auf die gesamte CD8-positiven Zellen bezogen. Diese erhalten die Vereinfachung: „CD8+ /CD8+ gesamt“.

Gleiches gilt für die zytokinproduzierenden CD8-negativen Zellen „CD8-“ und die zytokinproduzierenden CD8-negativen Zellen, die auf die gesamte CD8-negativen Zellen bezogen werden. Entsprechend erhalten diese die Vereinfachung in Form von „CD 8 -/CD 8 - gesamt“.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ wurde als signifikant(*), $p < 0,01$ als sehr signifikant(**) und $p < 0,001$ als höchst signifikant(***) definiert. Für die jeweiligen Parameter sind 25., 50. und 75. Perzentile angegeben. In den graphischen Darstellungen sind die Mediane der geprüften Parameter gegeneinander aufgetragen und nach ihrer signifikanten Abweichung markiert.

Bei den potentiell infizierten Neugeborenen (n=21) waren in signifikantem Maße mehr IL-6 produzierende CD3+ ($p<0,03$), CD8- ($p<0,001$) und CD 8 -/CD 8 – gesamt ($p<0,002$) Zellen nachweisbar als im klinisch gesunden Kollektiv (n=21) (Abb. 3.4.).

Interleukin-6- produzierende Zellen bei Neugeborenen mit und ohne Infektion

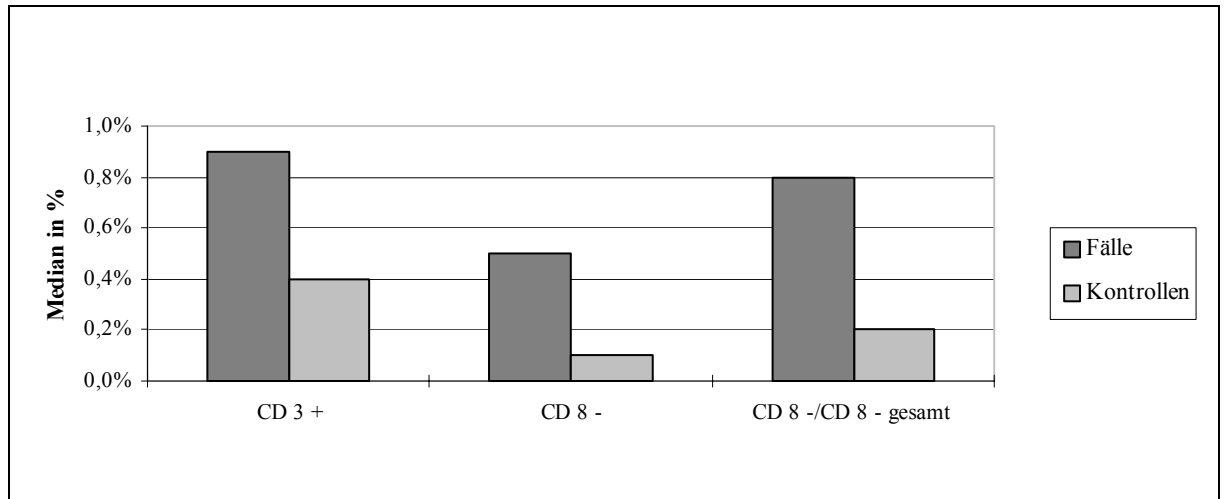


Abb. 3.4: Medianvergleich der IL-6 positiven CD3+ -, CD8- - und CD8- /CD8- gesamt-Zellen bei Kontrollen und Fällen.

Beim alleinigen Betrachten des Parameters Vorzeitiger Blasensprung (n=36(nein); n=5(ja)) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

In Abhängigkeit vom präpartal festgestellten maternalen CRP konnten signifikante Abweichungen bei der relativen Anzahl der IL-6 produzierenden CD8- ($p < 0,02$) und CD 8 -/CD 8 - gesamt ($p < 0,03$) beobachtet werden. (Abb. 3.5.).

Einfluß der mütterlichen. CRP-Konzentration auf die Anzahl der Interleukin-6-produzierenden Zellen

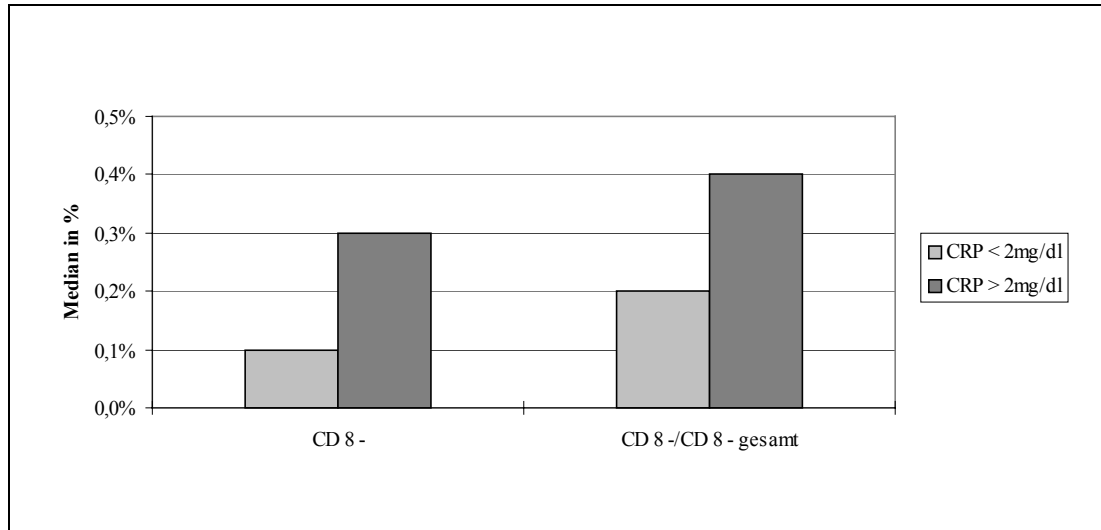


Abb. 3.5.: Medianvergleich der IL-6 positiven CD8- - und CD 8 -/CD 8 - gesamt -Zellen bei erhöhtem und nicht erhöhtem maternalen CRP.

Bei der Betrachtung der erhöhten maternalen Körpertemperatur fielen wieder die IL-6 produzierenden CD8- ($p < 0,02$) und die CD 8 -/CD 8 - gesamt($p < 0,03$) Zellen auf (Abb. 3.6.).

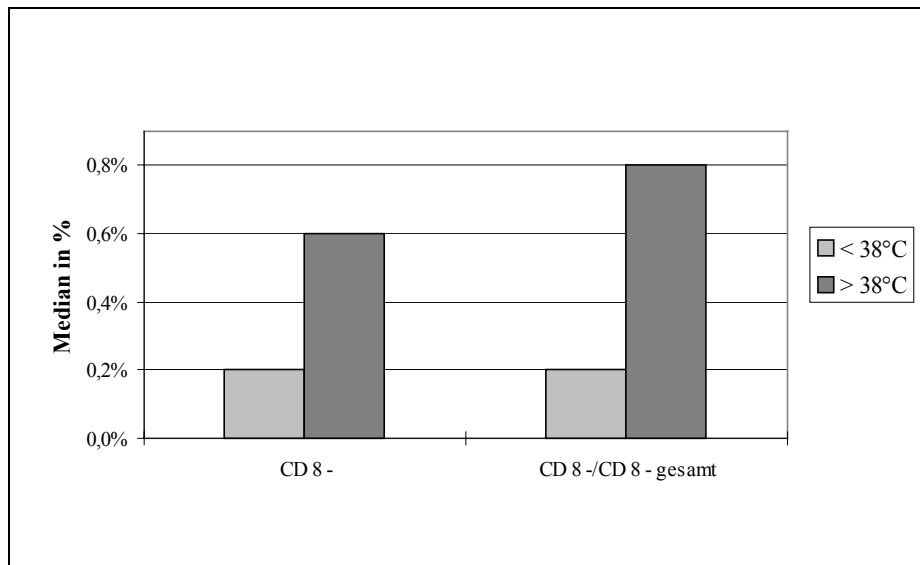


Abb. 3.6.: Medianvergleich der IL-6-positiven CD8- und CD 8 -/CD 8 - gesamt Zellen in Abhängigkeit von der maternalen Temperatur

Auch die fetale Tachykardie beeinflusst die Anzahl der IL-6-produzierenden CD3+($p<0,04$), CD8-($p<0,004$) und CD 8 -/CD 8 - gesamt($p<0,008$) signifikant (Abb. 3.7.).

Einfluß der fetalen Tachykardie auf die Anzahl der Interleukin-6-produzierenden Zellen

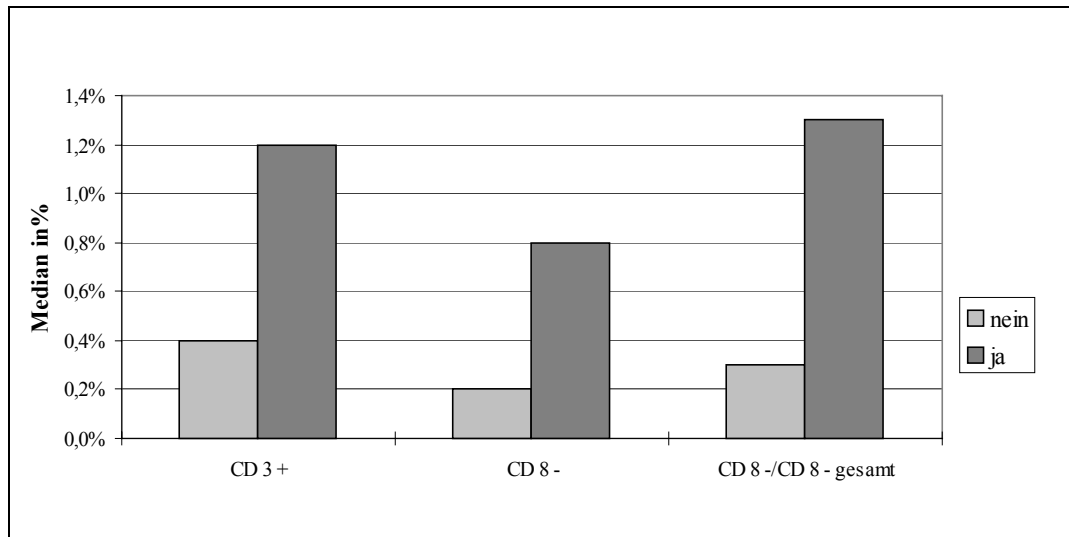


Abb. 3.7.: Medianvergleich der IL-6-positiven CD3+, CD8-, CD 8 -/CD 8 - gesamt Zellen in Abhängigkeit von dem Parameter fetale Tachykardie.

Die Infektion der Plazenta hat die signifikante Erhöhung der Anzahl Interleukin-6-produzierenden Zellen zur Folge: CD3+ ($p<0,02$) CD8- ($p<0,04$), CD8+ ($p<0,02$), CD 8 +/CD 8 + gesamt ($p<0,03$) (Abb.3.8.).

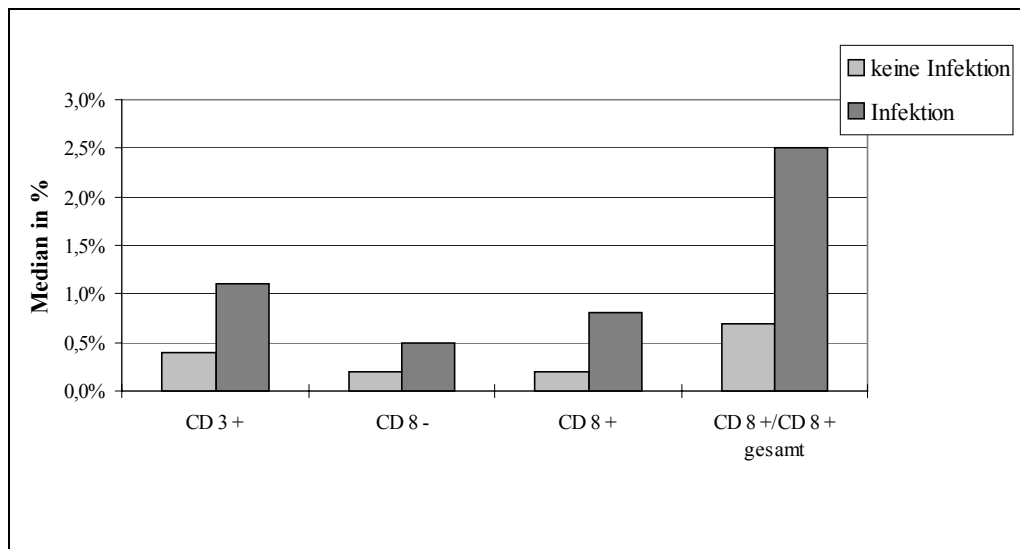


Abb. 3.8.: Medianvergleich der IL-6-positiven CD8-, CD8+ und CD8+ /CD8+ gesamt Zellen bei Plazentabefunden mit und ohne Infektion

Einfluß des Plazentabefundes auf die Anzahl der IL-6-produzierenden Zellen

Außerdem hatte der Parameter Frühgeburt einen signifikanten Einfluß auf die CD8 -/CD8 - gesamt ($p<0,05$). Es konnten Zellen mit intrazellulärer Interleukin-6-Produktion nachgewiesen werden, wenn das Kind zu früh geboren war.

Besondere Aufmerksamkeit erfordert die Tatsache der höchst signifikanten Unterschiede zwischen den Neugeborenen ($n=27$) und den Erwachsenen ($n=10$) betreffend der Interleukin-8 produzierenden Zellen.

Unterschiede in der Zellzahl Interleukin-8-sezernierender Zellen zwischen Erwachsenen und Neugeborenen

Tabelle 3.8: Darstellung der Medianwerte von Erwachsenen und Neugeborenen in absoluten Zahlen

	Neugeborene 25. –50. –75.Perz.	Erwachsene 25. –50. –75.Perz.
CD3+ (p<0,001)	(20,5%-26,4%-31,9%)	(3,4%-5,1%-6,4%)
CD8- (p<0,001)	(14,9%-19,9%-24,0%)	(2,6%-3,5%-4,9%)
CD 8 -/CD 8 - gesamt(p<0,001)	(21,5%-28,0%-33,3%)	(3,4%-4,7%-6,4%)
CD8+ (p<0,001)	(5,3%-6,4%-9,1%)	(0,8%-1,2%-2,0%)
CD 8 +/CD 8 + gesamt(p<0,001)	(17,4%-22,8%-28,9%)	(3,2%-6,1%-6,5%)

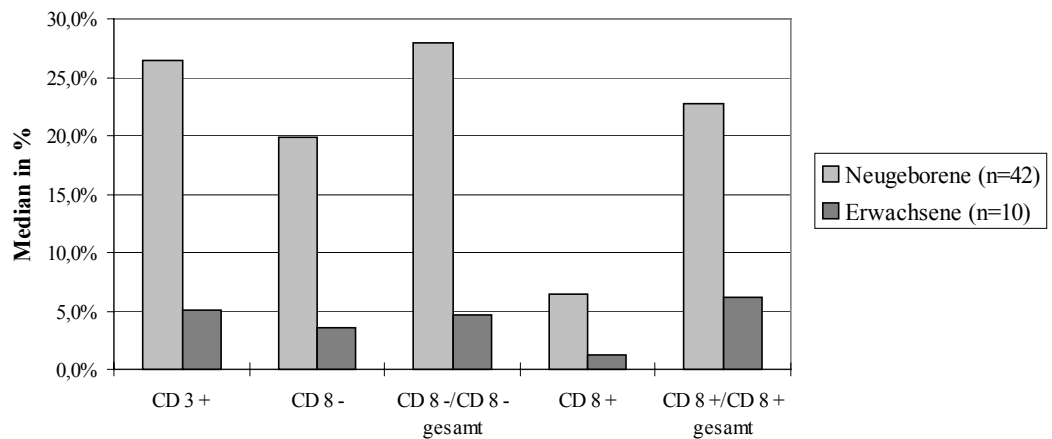


Abb. 3.9.: Medianvergleich der IL-8-positiven CD3+, CD8+, CD8+ /CD8+ gesamt, CD8- und CD 8 -/CD 8 - gesamt Zellen bei Erwachsenen und Neugeborenen in graphischer Darstellung

Daraus ergibt sich, daß die Neugeborenen signifikant mehr IL-8 produzierende Zellen aufweisen, als das Kontrollkollektiv, welches sich aus gesunden Erwachsenen rekrutierte.

3.3 Infektion des Neugeborenen und Infektion der Plazenta – Veränderungen der Konzentrationen von Immunmediatoren im Nabelschnurblut

Die pränatal oder perinatal erworbene Infektion des Neugeborenen ist in den meisten Fällen Folge einer unspezifischen bakteriellen Infektion, die sich ascendierend intrauterin auf das Ungeborene ausgedehnt hat. Bei diesem Prozeß wird die Plazenta mit einbezogen. Aus diesem Grund ist neben der Bezugsgröße „Neonatale Infektion“ die Plazentahistologie als zweiter Vergleichsparameter herangezogen worden. Die im Nabelschnurblut untersuchten Parameter waren Interleukin-6, Interleukin-8, TNF- α , G-CSF, Procalcitonin, CRP (hs).

Nachfolgend ist das Ergebnis der Korrelationsanalyse dargestellt (Tab. 3.9.).

Korrelationen der Immunmediatoren im Nabelschnurblut

Tab. 3.9. : Korrelationen der untersuchten infektionsrelevanten Parameter im Nabelschnurblut – untere linke Hälfte die Darstellung der Korrelationskoeffizienten; obere rechte Hälfte die Darstellung der Irrtumswahrscheinlichkeiten

	IL-6	IL-8	TNF- α	G-CSF	PCT	hsCRP
IL-6		p<0,001	k.K.	p<0,001	p<0,001	p<0,001
IL-8	0,669		k.K.	p<0,001	p<0,001	p<0,001
TNF- α	k.K.	k.K.		k.K.	k.K.	k.K.
G-CSF	0,794	0,7	k.K.		k.K.	p<0,05
PCT	0,345	0,7	k.K.	k.K.		p<0,001
HsCRP	0,164	0,23	k.K.	0,1	0,23	

k.K.= keine Korrelation

Unterschiedliche Zytokine und Infektionsparameter steigen gleichzeitig in ihrer Konzentration an. Positive Korrelationen bestehen zwischen Interleukin-6 und G-CSF, Interleukin-8, Procalcitonin sowie dem hochsensitiven CRP im Nabelschnurblut. Die in der Tabelle dargestellten Korrelationen sind signifikant nach Pearson, wobei die stärkste Korrelation von Interleukin-6 zu G-CSF besteht. Eine schwache Korrelation besteht zum CRP ($r = 0,164$; $p < 0,001$).

Es besteht eine positive Korrelation zwischen Procalcitonin und sowohl Interleukin-8 als auch Interleukin-6 ($p < 0,001$). Eine schwächere Korrelation ergibt sich zwischen Procalcitonin und dem CRP.

Interleukin-6: Für alle Untersuchungen liegt der Medianwert des Interleukin-6 im Nabelschnurblut bei 12,1 pg/ml (7,4 – 26,8 pg/ml).

Interleukin-6 und klinische Parameter

Tab. 3.10.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten Interleukin-6-Konzentrationen in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des Interleukin-6 in untersuchter Gruppe (in pg /ml)		p
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	
Positive Plazentahistologie	27,4	12,0	< 0,001
Klinische neonatale Infektion	23,2	11,2	0,054
Grünes Fruchtwasser	17,9	11,6	< 0,01
Eröffnungsperiode > 12 Std.	24,8	11,9	< 0,005

Neben einer signifikanten Erhöhung der Interleukin-6-Konzentration im Nabelschnurblut ist ein deutlicher aber nicht statistisch signifikanter Konzentrationsanstieg bei einer diagnostizierten Infektion des Neugeborenen feststellbar. Als Nebenbefund fällt eine Erhöhung des Interleukin-6 im Nabelschnurblut bei Vorhandensein von grünem Fruchtwasser auf. Interleukin-6 korreliert nicht mit $\text{TNF-}\alpha$ oder mit dem Gewicht des Kindes.

Ein deutlicher Unterschied ergibt sich auch in den Fällen, in denen die Patientinnen Antibiotika während der Geburt erhalten hatten.

Procalcitonin: Für alle Untersuchungen lag der Medianwert des Procalcitonins im Nabelschnurblut bei 0,124 ng/ml (< 0,01 - 0,218 ng/ml) mit einem Minimum von 0 ng/ml und einem Maximum von 73,4 ng/ml.

Procalcitonin und klinische Parameter

Tabelle 3.11.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten Procalcitonin-Konzentrationen in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des Procalcitonins in untersuchter Gruppe (in ng/ml)		P
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	
Positive Plazentahistologie	0,17	0,11	< 0,005
Klinische neonatale Infektion	0,29	0,12	< 0,001
Frühgeburt	0,18	0,12	<0,05
Periduralanästhesie	0,18	0,11	<0,001
Grünes Fruchtwasser	0,2	0,12	< 0,001
Antibiose sub partu	0,27	0,12	<0,001
Blasensprung >12 Std ante partum	0,16	0,12	< 0,05
Blasensprung >24 Std ante partum	0,2	0,12	< 0,05

Procalcitonin ist signifikant erhöht nachweisbar im Nabelblut frühgeborener Kinder ($p < 0,05$). Damit unterscheidet es sich vom Interleukin-6. Außerdem ist das Procalcitonin deutlich erhöht bei einer gesicherten Infektion des Neugeborenen und wenn präpartal ein Kriterium für ein

Amnioninfektionssyndrom erfüllt war ($p < 0,001$). Erhöhung der Procalcitonin-Konzentrationen ergaben sich ebenfalls bei dem Nachweis einer Infektion der Plazenta ($p < 0,005$). Der Geburtsmodus, die Dauer der Eröffnungsperiode und die Lage des Kindes haben keinen Einfluß auf die PCT-Konzentration. Procalcitonin ist also bei allen infektionsrelevanten Parametern im Nabelschnurblut signifikant erhöht.

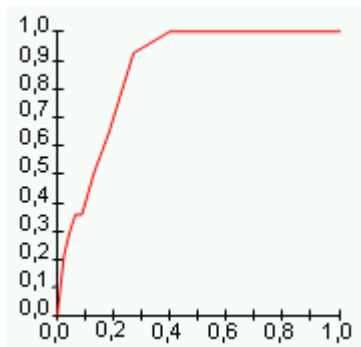


Abb. 3.10: ROC der PCT-Konzentration bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion (Fläche unter der Kurve 0,87; Standardabweichung 0,03)

Mit einer Sensitivität von 93,3% und einer Spezifität von 73,1 % geht eine erhöhte Konzentration von Procalcitonin im Nabelblut mit einer neonatalen Infektion einher. Der Grenzwert für diese Untersuchungen liegt bei 0,2 ng/ml und befindet sich damit im unteren Bereich der Nachweisgrenze.

Hochsensitives CRP: Für alle Untersuchungen lag der Medianwert des mittels eines hochsensitiven Nachweisverfahrens bestimmten CRP-Wertes bei 0,02 mg/dl (0-0,030 mg/dl), das Minimum befand sich unterhalb von 0,02 mg/dl, das Maximum bei 4,1 mg/dl.

Schwach positive Korrelationen ergaben sich mit Interleukin-6, Procalcitonin und Interleukin-8 ($p < 0,001$). Die CRP-Konzentration im Nabelschnurblut korreliert nicht mit G-CSF und TNF- α .

Tabelle 3.12.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten CRP-Konzentrationen in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des CRP in untersuchter Gruppe (in mg/dl)		p
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	
Positive Plazentahistologie	0,024	0,02	$< 0,005$
Klinische neonatale Infektion	0,061	0,02	$< 0,001$

Deutlich erhöht ist das CRP bei einer klinischen Infektion des Kindes ($p < 0,001$). Ansonsten sind keine Unterschiede hinsichtlich der CRP-Konzentrationen bei den untersuchten Gruppen festzustellen.

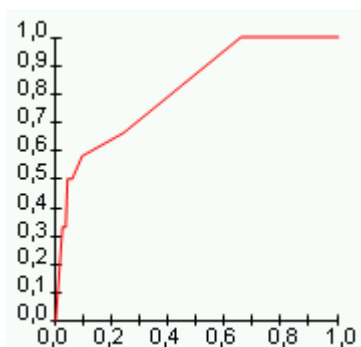


Abb.3.11.: ROC des CRP bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion (Fläche unter der Kurve 0,82)

Mit der Durchführung der CRP-Bestimmung aus dem Nabelblut mit einem hochsensitiven Kit wird eine Sensitivität von 58,3 % und eine Spezifität von 90,4% bei einem Grenzwert von 0,04 mg/dl erreicht.

Interleukin-8: Für alle Untersuchungen lag der Medianwert des Interleukin-8 bei 12,2 pg/ml mit einem Minimum von 0,1 pg/ml und einem Maximum von 1000 pg/ml.

Es besteht eine positive Korrelation zwischen Interleukin-8 im Nabelschnurblut und Interleukin-6, G-CSF und Procalcitonin ($p < 0,001$). Ebenfalls besteht eine positive, aber schwache Korrelation zwischen Interleukin-8 und dem CRP ($< 0,001$).

Keine Korrelationen bestehen zwischen Interleukin-8 und $\text{TNF-}\alpha$. Ebenfalls bestehen keine Korrelationen zwischen Interleukin-8 und der Zeit zwischen Blasensprung und Geburt, dem Gestationsalter, der Gewichtsperzentile bei Geburt, dem Nabelarterien-pH und der Dauer der Eröffnungsperiode.

Tabelle. 3.13.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten Konzentrationen an Interleukin-8 in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des Interleukin-8 in untersuchter Gruppe (in pg/ml)		p
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	
Klinische neonatale Infektion	15,3	10,0	$< 0,05$
Positive Plazentahistologie	17,2	9,1	$< 0,001$
Antibiose sub partu	14,4	9,9	$< 0,001$

Wenn eine Infektion bei der histologischen Untersuchung der Plazenta festgestellt wurde, war die Interleukin-8-Konzentration im Nabelblut deutlich erhöht ($p < 0,001$). Liegt eine klinische Infektion des Neugeborenen vor, ist ebenfalls der Medianwert im Nabelblut deutlich erhöht ($p < 0,05$). Eine antibiotische Behandlung sub partu ist gleichbedeutend mit einem präpartalen Verdacht auf eine Infektion der Fruchthöhle. In diesen Fällen lag der Medianwert der Interleukin-8-Konzentration im Nabelschnurblut deutlich erhöht gegenüber den Fällen, in denen die Mutter keine antibiotische Behandlung erfahren hat ($p < 0,005$). Keine Unterschiede hinsichtlich der Interleukin-8-Konzentration ergaben sich zwischen Termin- versus Frühgeburten, mütterlicher CRP-Werte, grünen Fruchtwassers, Geburtsmodus, mütterlicher Leukozytose, Dauer der Eröffnungsperiode, Poleinstellung des Kindes, Δ -T nach Blasensprung, Gewicht des Kindes oder des Blutgasstatus.

$\text{TNF-}\alpha$: Für alle Untersuchungen lag der Medianwert des $\text{TNF-}\alpha$ bei 18,5 pg/ml (7,3 - 40,9 pg/ml) mit einem Minimum bei 0,3 pg/ml und einem Maximum bei 1000 pg/ml. Mit allen anderen untersuchten Parametern korreliert das $\text{TNF-}\alpha$ nicht.

Tabelle. 3.14.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten Konzentrationen an $\text{TNF-}\alpha$ in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des $\text{TNF-}\alpha$ in untersuchter Gruppe (in pg/ml)		p
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	
Blasensprung >24 Std.	30,8	18,3	$< 0,05$

Außerdem ist ein signifikanter Anstieg festzustellen, wenn die Frauen einen Blasensprung hatten, der mehr als 24 Stunden vor der Geburt zurücklag ($p < 0,05$). Bei allen anderen untersuchten Parametern gab es keine signifikanten Unterschiede.

G-CSF: Für alle Untersuchungen lag der Medianwert des G-CSF bei 92,6 pg/ml (70,7 - 142,2 pg/ml), das Minimum befindet sich bei 0 pg/ml und das Maximum bei 8454,2 pg/ml.

Das G-CSF korreliert positiv mit Interleukin-6 und Interleukin-8 ($p < 0,001$). Des weiteren bestehen schwach positive Korrelationen mit der CRP-Konzentration im Nabelblut.

Tabelle 3.15.: Signifikante Veränderungen der im Nabelschnurblut festgestellten Konzentrationen an G-CSF in Abhängigkeit von geburtshilflichen und infektionsrelevanten Parametern bzw. Ereignissen

	Median des G-CSF in untersuchter Gruppe (in pg/ml)		
	Merkmal vorhanden	Merkmal nicht vorhanden	p
Positive Plazentahistologie	154,9	87,9	$< 0,001$
Blasensprung >12h	113,5	89,3	$< 0,05$

Eine schwach negative Korrelation besteht mit dem Gestationsalter.

Keine Korrelationen bestehen mit PCT, dem Gestationsalter, dem kindlichen Gewicht und dem Nabelarterien-pH.

Bei positiver Plazentahistologie ergibt sich ebenfalls eine signifikante Erhöhung des G-CSF im Nabelschnurblut ($p < 0,001$). Erhöht ist das G-CSF, wenn der Blasensprung mehr als 12 Stunden vor der Geburt zurücklag ($p < 0,05$). Deutlich erniedrigt ist das G-CSF bei den Kindern, die durch eine primäre Sektio geboren wurden und Kindern, die aus Beckenendlage geboren wurden ($p < 0,005$). Keine Unterschiede der G-CSF-Konzentration gab es hinsichtlich des Gestationsalters, des Anästhesie-Verfahrens, der fetalen Herzfrequenz, der Farbe des Fruchtwassers, der mütterlichen Temperatur, der Antibiotika-Gabe, neonataler Infektionen, Dauer der Eröffnungsperiode, Markosomie oder Azidose.

Kombination verschiedener Parameter: Zur Verbesserung der Diagnostik einer neonatalen Infektion im Nabelblut durch Bestimmung der oben beschriebenen Infektparameter wurde die Kombination verschiedener „aussichtsreicher“ Parameter durchgeführt und eine Analyse dieser Kombinationen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität zum Ereignis „Neonatale“ Infektion durchgeführt (Tab. 3.)

Kombination unterschiedlicher Infektparameter

Tabelle 3.16.: Kombination zweier Parameter in Bezug auf das Ereignis neonatale Infektion

	Sensitivität	Spezifität
Interleukin-6 + Procalcitonin	92,9 %	57,7 %
Interleukin-6 + CRP	66,7 %	73 %
Procalcitonin + CRP	100 %	67,4 %

3.4 Infektparameter im Nabelschnurblut unter besonderer Berücksichtigung der präpartalen klinischen Symptomatik

Im Nabelschnurblut wurden die folgenden Parameter untersucht: Interleukin-6, Interleukin-8, Tumor-Nekrosefaktor- α , C-Reaktives Protein, Granulozyten-Koloniestimulierender Faktor (G-CSF), und Procalcitonin (PCT).

Diese Parameter stellen sowohl im Organismus erwachsener Individuen als auch bei Kindern Immunmediatoren dar. Sie können im Zusammenhang mit Infektionen sowohl lokal als auch bei erheblichem Ausmaß der Infektion systemisch nachgewiesen werden. Nachfolgend wird der Zusammenhang zwischen den vorgeburtlich beschriebenen Parametern für eine beginnende intrauterine Infektion (fetale Tachykardie, mütterliche Temperaturerhöhung und Erhöhung der CRP-Konzentration im Serum der Schwangeren) mit der Konzentration dieser Immunmediatoren im Nabelvenenblut beschrieben.

Immunmediatoren und präpartale Infektionsparameter

Tabelle 3.17.: Veränderung der Medianwerte der Immunmediatoren im Nabelschnurblut in Abhängigkeit von präpartal erhobenen Infektparametern

	Fetale Tachykardie	Mütterliche Temperaturerhöhung	Mütterliche CRP-Erhöhung
Interleukin-6	+ p<0,005	+ p<0,001	-
Interleukin-8	+ p<0,001	+ p<0,005	-
TNF- α	+ p<0,01	-	-
CRP	-	+ p<0,005	-
PCT	+ p<0,001	+ p<0,001	+ p<0,001
G-CSF	-	-	+ p<0,005

+ = signifikante Erhöhung des Medians; - = keine signifikante Veränderung des Medians

Medianwerte der Immunmediatoren in Abhängigkeit der präpartalen Infektionsparameter

Tabelle 3.18.: Unterschiede des Medians der Immunmediatoren in Abhängigkeit von präpartalen Parametern, die auf eine intrauterine Infektion hinweisen.

	Fetale Tachykardie		Mütterliche Temperaturerhöhung		Mütterliche CRP-Erhöhung	
	Nein	ja (>150 SPM)	nein	ja (> 38,0° C)	nein	ja (> 0,6 mg/dl)
Interleukin-6	11,8	43,7	11,8	42,6	11,3	20,3
Interleukin-8	9,8	16,2	9,9	18,2	9,7	11,5
TNF- α	18,6	17,7	18,3	44,0	20,9	14,9
CRP	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,023
PCT	0,12	0,32	0,12	0,32	0,11	0,29
G-CSF	92,9	116,0	92,9	98,8	87,4	103,6

Der Median der Procalcitonin-Konzentration im Nabelschnurblut ist signifikant bei jedem der drei beobachteten präpartalen Faktoren erhöht nachweisbar. Damit ist das PCT der einzige Immunmediator, der bei allen drei präpartalen Verdachtskriterien für eine intrauterine Infektion erhöht ist. Das kann ein Hinweis für eine hohe Empfindlichkeit des Procalcitonins im fetalen Kreislauf für den Beginn einer Infektion darstellen. Im Umkehrschluß haben die drei präpartal festgestellten Infektionsparameter eine große hinweisende Kraft auf intrauterine Infektionen, wenn schon der Beginn einer fetalen bzw. neonatalen Infektion durch einen Anstieg der PCT-Konzentration im Nabelschnurblut reflektiert würde.

Nur das PCT und das G-CSF sind im Nabelschnurblut erhöht nachweisbar, wenn der Geburt eine CRP-Erhöhung bei der Mutter vorausging.

Eine präpartale mütterliche Temperaturerhöhung geht mit einer Erhöhung von Interleukin-6, Interleukin-8, CRP und dem PCT im Nabelschnurblut einher. Die vorgeburtlich festgestellte fetale Tachykardie führt zu einer Steigerung der Konzentrationen an Interleukin-6, Interleukin-8, und dem TNF- α .

Stiegen die CRP-Konzentrationen im Serum der Mutter präpartal über 0,6 mg/dl, lag der Median der Interleukin-6-Bestimmungen mit 20,3 pg/ml höher gegenüber den Frauen, die nicht diese CRP-Erhöhung aufwiesen ($p < 0,005$). Eine direkte statistisch nachweisbare Korrelation zwischen einzelnen Interleukin-6-Werten im Nabelblut und den mütterlichen CRP-Werten besteht allerdings nicht.

Ebenfalls auch signifikant erhöht ist die PCT-Konzentration im Nabelblut, wenn vor der Geburt Symptome für ein beginnendes Amnioninfektionssyndrom festgestellt wurden. Wenn das mütterliche CRP erhöht war, die Mutter Fieber sub partu entwickelt hatte und wenn eine fetale Tachykardie vorlag, war das Procalcitonin im Nabelblut signifikant erhöht ($p < 0,001$). Eine Folge des präpartal bestehenden Verdachtes auf einen beginnenden Infekt ist die antibiotische Behandlung der Mutter während der Geburt. In diesen Fällen war auch die Procalcitoninkonzentration im Nabelschnurblut signifikant erhöht.

Ähnliche Ergebnisse finden sich für den Zusammenhang einer Erhöhung der Procalcitonin-Konzentration im Nabelblut und dem Vollbild eines Amnioninfektionssyndromes. Mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 66,2 % beschreibt eine Erhöhung der Procalcitonin-Konzentration über den Grenzwert von 0,25 ng/ml das Vorliegen des präpartal diagnostizierten Vollbildes eines Amnioninfektionssyndromes.

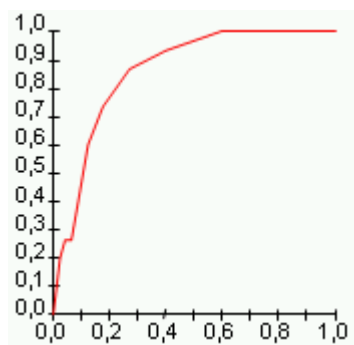


Abb. 3.12.: Verlauf der ROC von Procalcitonin in Bezug auf den Faktor mütterliche Temperaturerhöhung über 38°C (Fläche unter der Kurve 0.86, Standardabweichung 0.036)

Mit einer Sensitivität und Spezifität von 69 % und 84,5 % für den präpartalen Parameter fetale Tachykardie (Grenzwert 0,25 ng/ml) und einer Sensitivität von 87,5 % und einer Spezifität von 74,8 % für die präpartal diagnostizierte mütterliche Temperaturerhöhung

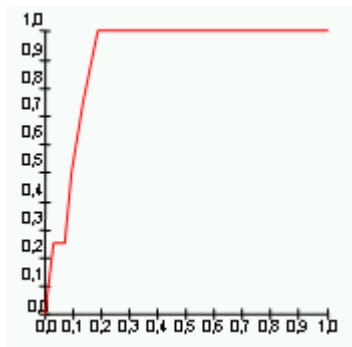


Abb. 3.13.: ROC der PCT-Konzentration bezogen auf das Ereignis Amnioninfektionssyndrom (Fläche unter der Kurve 0,91, Standardabweichung 0,03)

Ebenfalls bestanden Unterschiede, wenn eine fetale Tachykardie pränatal festgestellt wurde ($p < 0,001$). Auch mütterliches Fieber führt zu einer Erhöhung der Interleukin-8- Konzentration im Nabelblut ($p < 0,005$).

Ein Anstieg des $\text{TNF-}\alpha$ im Nabelschnurblut kann dann festgestellt werden, wenn die Mutter präpartal Fieber entwickelte ($p > 0,01$).

Signifikant erhöht ist das G-CSF bei mütterlicher CRP-Erhöhung $> 0,6 \text{ mg/dl}$ ($p < 0,005$).

4 Diskussion

4.1 Evaluierung präpartaler klinischer Infektionsparameter

Die Frühgeburt und die neonatale Infektion sind neben der Hypoxämie die Hauptgefahren, die dem Neugeborenen drohen. Diese beiden Faktoren sind für den größten Teil der Mortalität und auch der Morbidität der Neugeborenen verantwortlich. Besonders ungünstig ist die Kombination dieser beiden Risikofaktoren.

Trotz aller Bemühungen ist es in den letzten 20 Jahren nicht gelungen, die Frühgeburtenrate relevant zu senken. Die Behandlung der vorzeitigen Wehentätigkeit ist nicht sehr effektiv, allerdings ist die Aufklärung der Pathogenese der vorzeitigen Wehentätigkeit deutlich vorangeschritten. Mehrere Untersucher konnten einen Zusammenhang zwischen positiven Kulturen des Fruchtwassers und der Plazenta und der Entstehung vorzeitiger Wehen und eines vorzeitigen Blasensprunges feststellen (Watts 1992, Salafia 1995, Yoon 1995). Übereinstimmend kommen sie zu dem Schluß, daß eine von der Scheide ausgehende ascendierende Genitalinfektion der Auslöser von vorzeitigen Wehen oder eines vorzeitigen Blasensprunges ist. Neben der Frühgeburt als Folge vorzeitiger Wehen oder eines vorzeitigen Blasensprunges besteht die Gefahr einer direkten Beeinträchtigung oder gar Schädigung des Kindes durch die Infektion selbst. Die perinatale Infektion ist unabhängig vom Gestationsalter vergesellschaftet. Die intraamniotische Infektion geht mit einem gesteigerten Risiko einer intraventrikulären Blutung, der periventrikulären Leukomalazie, der nekrotisierenden Enterokolitis und der neonatalen Sepsis einher (Salafia 1995, Watterberg 1996).

Die Diagnose der Infektion der Fruchthöhle ist vorgeburtlich schwer. Sie wird klinisch durch die Parameter „fetale Tachykardie“, „mütterliche Temperaturerhöhung“ und „Mütterliche Erhöhung der Serum-CRP-Konzentrationen“ gestellt.

Mütterliches Fieber während der Geburt kann von unterschiedlichen Situationen herrühren. Lokalisierte und allgemeine Infektionen, die überhaupt nichts mit der Geburt oder der Schwangerschaft zu tun haben, können genauso für mütterliche Temperaturerhöhungen verantwortlich sein wie infektionsunabhängige Faktoren wie Streß, fehlende Hydratation der Mutter, überhitzte Räume u.ä. Andererseits kann mütterliches Fieber vor und während der Geburt Hinweiszeichen für eine Chorioamnionitis sein. Liegt die mütterliche Temperatur über 38° C und sind zusätzlich zwei der nachfolgend aufgezählten Symptome positiv (mütterliche Tachykardie, purulenter Fluor vaginalis, fetale Tachykardie, untere Schmerzenhaftigkeit, mütterliche Leukozytose) ist die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Chorioamnionitis sehr hoch und es wird die peripartale Gabe von Antibiotika empfohlen (Hager 1985, Gilstrap 1988).

Diese Studien entsprechen der klinischen Erfahrung. In unserer Untersuchung wurde neben der mütterlichen vorgeburtlichen Temperaturerhöhung die fetale Tachykardie und die mütterliche CRP-Konzentration auf ihre Wertigkeit in Bezug auf das Ereignis „neonatale Infektion“ untersucht. Die präpartal festgestellte fetale Tachykardie hat eine Sensitivität für das Ereignis „Neonatale Infektion“ von 28,6 %, bei einer Spezifität von 95 %. Ähnlich liegen die ermittelten Werte einer präpartal festgestellten mütterlichen Temperaturerhöhung mit einer Sensitivität von 9,2 % und einer Spezifität von 98 %. Eine Erhöhung des CRP bei der Schwangeren zeigt mit einer Sensitivität von 45,5 % das Ereignis „Neonatale Infektion“ an. Die Spezifität beträgt 64,4 %.

Ähnliche Ergebnisse werden von Yoon beschrieben. Allerdings wurden von ihm die präpartalen Symptome lediglich in das Verhältnis zum Ereignis Chorioamnionitis gesetzt. Bei einem Grenzwert von 0,7 mg/dl im Serum der Mutter hat das CRP eine Sensitivität zur Aufdeckung einer histologisch gesicherten akuten Chorioamnionitis von 81 %, die Anzahl der Leukozyten von mehr als 14700/mm³ von 65 % und eine Erhöhung der mütterlichen Temperatur von mehr als 37,5° C von 19 %. Bei Überschreiten dieses Temperaturwertes hatte aber dieser Parameter mit 100 % die höchste Spezifität; diese lag bei dem beschriebenen CRP-Wert bei 75 % und für die Leukozytenkonzentration bei 88% (Yoon-BH, 1996).

Eine von Ohlsson durchgeführte differenzierte Betrachtung des CRP-Wertes über mehrere Tage kann die Aussagekraft der präpartalen CRP-Bestimmung verbessern. Hierzu kommen folgende CRP-Veränderungen in Frage: Ein CRP-Anstieg von mehr als 2 mg/dl, eine bleibend hohe Konzentration des CRP von mehr als 4 mg/dl oder eine Veränderung der CRP-Konzentration von mehr als 30% von Tag zu Tag betrachtet, geben Hinweise auf eine bestehende Chorioamnionitis (Ohlsson-A, 1990).

Trotz der schlechten Sensitivität der untersuchten Parameter ist in Ermangelung einer besseren Frühdiagnostik des Amnioninfektionssyndromes die Beachtung dieser Faktoren von immenser klinischer Bedeutung. Es ist unerlässlich, diese drei zur Verfügung stehenden Parameter in Kombination zu betrachten. Denn wenn einer dieser drei Parameter erhöht ist, steigt die Sensitivität für das Ereignis „neonatale Infektion“ auf 54,5 %

4.2 Aktivierung des zellgebundenen Immunsystems des Neugeborenen

Mit Hilfe von Chordozentesen bei vorzeitiger Wehentätigkeit wurde die Aktivierung des fetalen Monozyten-Neutrophilen-Systems bei den Kindern nachgewiesen, die später eine Frühgeburt erlitten. Durch die Flowzytometrie konnte die Präsentation der Oberflächenmarker CD11c, CD13, CD15 und CD 67 dargestellt werden. Dieser Befund spricht für eine Aktivierung der Monozyten und Neutrophilen in utero als Antwort auf eine Auseinandersetzung mit ascendierten Mikroorganismen (Berry-SM, 1995). Die Feten sind also durchaus schon sehr früh in der Lage, auf Infektionen adäquat zu reagieren. Eine Reaktion der T-Zellen geschieht nur dann, wenn neben dem spezifischen Antigen costimulierende Faktoren präsentiert werden. Antigenpräsentierende Zellen sind entweder Makrophagen, B-Zellen oder dendritische Zellen. Wichtige Funktion sind die selektive Vernichtung infizierter Zellen durch die CD-8 positiven zytotoxischen T-Zellen, die Aktivierung der Makrophagen durch TH-1- und die Aktivierung von B-Zellen durch TH-1- und TH-2-Zellen, damit diese für die humorale Immunantwort verschiedene Typen von Antikörpern bilden können. Die funktionelle Unreife der Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt ist daher eher auf den vorher fehlenden Kontakt mit Mikroorganismen zurückzuführen. In diesem Zusammenhang ist auch die verzögerte Antwort der Neutrophilen des Neugeborenen zusehen. Sie ist mit verantwortlich für die gesteigerte Empfindlichkeit der Neugeborenen gegenüber Infektionen. Zum Zeitpunkt der Geburt sind die Lymphozyten Neugeborener schon in der Lage, relevant Konzentrationen inflammatorischer Zytokine zu produzieren. So ist das in der Nabelschnur nachgewiesene Interleukin-6 fetalen Ursprungs (Messer 1996).

Im Zusammenhang mit einer Infektion steigt die Anzahl granulozytopoetischer Zellen in der fetalen Leber um das 12fache (Stallmach 1994). Diese Zellen sind mitverantwortlich für die Freisetzung des Interleukin-8. Es ist also anzunehmen, daß das im fetalen Kreislauf zirkulierende Interleukin-8 und letztlich auch in der Nabelschnur nachzuweisende Interleukin-8 aus der fetalen Leber stammt. Die Monozyten Neugeborener sind prinzipiell in der Lage, Interleukin-8 zu bilden und freizusetzen (Schibler 1993). Unsere Ergebnisse demonstrieren die Fähigkeit der CD3+- Zellen des Neugeborenen, Interleukin-6 und Interleukin-8 freizusetzen. Eine signifikant gesteigerte Freisetzung findet statt, wenn die Mütter der untersuchten Neugeborenen präpartal eine Temperaturerhöhung über 38°C, eine CRP-Erhöhung von mehr als 2mg/dl aufwiesen oder wenn die Feten präpartal eine Tachykardie von mehr als 160 Schlägen pro Minute aufwiesen. Ebenfalls gesteigert ist die intrazelluläre Interleukin-6-Freisetzung bei all den Fällen, bei denen histologisch eine Infektion der Plazenta nachgewiesen werden konnte.

Eine verminderte Produktion von IL-8 durch Lymphozyten in einer Lymphozytenzellkultur auf einen LPS-Stimulus hin kann Folge einer verminderten Freisetzung von TNF durch neonatale Monozyten sein (Weatherstone 1989). Im Gegensatz zu diesen Zellkulturversuchen konnten wir als Reaktion auf die gleiche Stimulationsmethode eine deutlich höhere intrazelluläre Konzentration von Interleukin-8 in neonatalen Lymphozyten feststellen als in Lymphozyten erwachsener Probanden. Diese gesteigerte Freisetzung zeigte sich bei allen untersuchten Neugeborenen und läßt auf eine gute Reagibilität der Neugeborenen auf infektiöse Stimuli schließen.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Lymphozyten des Neugeborenen durchaus in der Lage sind, inflammatorische Zytokine zu sezernieren. Damit wird die Möglichkeit einer zellvermittelten Antwort auf eine bakterielle Invasion aufgezeigt. Weiterhin kann durch die Aufteilung der beiden untersuchten Gruppen nach präpartal festgestellten Infektionskriterien eine für eine Infektion typische Reaktion festgestellt werden.

4.3 Lösliche Infektparameter im Nabelschnurblut als Zeichen der Immunkompetenz des Feten und als diagnostisches Kriterium

Die von uns durchgeführte Untersuchung unterscheidet sich methodisch von den anderen Studien dadurch, daß sie prospektiv an einem Normalkollektiv durchgeführt wurden und daß die Zytokinbestimmungen im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt und nicht im Serum des Neugeborenen durchgeführt wurden. Damit ist es möglich, eine Evaluierung der untersuchten Parameter durchzuführen.

Die ascendierende Genitalinfektion spielt eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der vorzeitigen Wehentätigkeit, des vorzeitigen Blasensprunges und der Frühgeburt (Watts 1992).

4.3.1 Interleukin-6

In diesem Zusammenhang ist eine Erhöhung der Konzentration inflammatorischer Zytokine im Fruchtwasser als ein zuverlässiger Indikator für eine intrauterine Infektion beschrieben worden. Interleukin-6 wird intrauterin von der fetomaternalen Einheit produziert. Ein Großteil dieses Zytokins scheint seinen Ursprung in der Eihaut zu haben, denn diese ist zur Interleukin-6-Produktion in der Lage. Die Freisetzung erfolgt zum Beispiel nach einer Stimulation mit Lipopolysacchariden, also einer Stimulation, die eine bakterielle Infektion simuliert (Menon 1995; Fortunato 1996). Am ehesten ist also davon auszugehen, daß Veränderungen der Interleukin-6-Konzentrationen in der Nabelschnur von infektiösen Prozessen abhängen. Im Gegensatz dazu ist Interleukin-6 im mütterlichen Blut nicht in meßbaren Konzentrationen enthalten. Außerdem wird Interleukin-6 vom Feten selbst produziert, höchstwahrscheinlich von der fetalen Leber (Kutteh 1991). Erhöhte Interleukin-6-Konzentrationen im Fruchtwasser korrelieren mit einem positiven mikrobiologischen Befund aus Fruchtwasser- und Plazentakulturen (Andrews 1995). Es gibt eine Verbindung zwischen erhöhten Interleukin-6-Konzentrationen im Fruchtwasser und einer höheren perinatalen Morbidität. Das erhöhte Risiko besteht bei dieser Konstellation für das Auftreten einer neonatalen Sepsis, einer nekrotisierenden Enterokolitis und weiteren Erkrankungen, die im Zusammenhang mit prä- und perinatal erworbenen Infektionen stehen (Yoon 1995). Interleukin-6 ist als ein inflammatorisches Zytokin potentiell im Nabelschnurblut von Neugeborenen nachweisbar (Singh 1996; Lencki 1994; Ichijo 1995).

Die Erhöhung von Interleukin-6 im Nabelblut deutet damit auf ein intrauterin begonnenes infektiöses Geschehen hin, welches den Feten schon erreicht hat oder gerade erreicht. Dieser Zusammenhang erklärt auch die Verbindung zwischen erhöhten Konzentrationen an Interleukin-6 im Nabelschnurblut und der Entwicklung einer Sepsis und auch dem Auftreten von periventrikulären Läsionen im Sinne einer Leukomalazie (Yoon 1996). Einige Autoren behaupten, hohe Interleukin-6-Konzentrationen im Nabelschnurblut beweisen die intrauterin begonnene fetale und jetzt neonatale Infektion (Stallmach 1995). In unserer Studie kann aber nachgewiesen werden, daß die Bestimmung von Interleukin-6 im Nabelschnurblut zur Entdeckung einer neonatalen Infektion keinen Sinn macht. Zur Frühentdeckung einer neonatalen Infektion ist die alleinige Bestimmung der Interleukin-6-Konzentration im Nabelblut nicht geeignet. Im Gegensatz dazu ist das Interleukin-6 deutlich erhöht, wenn eine Chorioamnionitis histologisch nachweisbar ist. Bei klinischen Infektionen ist zwar das Zytokin im Nabelschnurblut deutlich erhöht, der Unterschied ist aber nicht signifikant, eine Untersuchung auf Sensitivität und Spezifität macht bei fehlender Signifikanz dieser Unterschiede keinen Sinn. Dennoch zeigen die Studien von Yoon, daß eine erhöhte Interleukin-6-Konzentration im Nabelschnurblut Hinweiszeichen für eine gravierende cerebrale Beeinträchtigung sein kann. Unklar ist, ob diese Interleukin-6-Erhöhungen im Nabelblut ausschließlich Folge von Infektionen waren oder ob auch andere geburtshilflich relevante Ereignisse wie z.B. eine perinatal aufgetretene Hypoxämie zu dieser Interleukin-6-Steigerung führte.

Anders steht es mit dem Einsatz der Interleukin-6-Bestimmung bei Neugeborenen, die schon mit dem Verdacht auf eine Infektion auf die neonatologische Intensivstation verlegt wurden.

Bei der sicheren Diagnose einer Sepsis wie bei der Meningokokkensepsis des Neugeborenen sind erhöhte Interleukin-6-Konzentrationen assoziiert mit einer schlechten Prognose des Krankheitsverlaufes. Aus diesem Grund wurde vorgeschlagen, daß die Interleukin-6-Bestimmung bei infektiösen Erkrankungen des Neugeborenen ein nützlicher diagnostischer Marker bei neonatalen Infektionen ist (de Bont-ESJM, 1993). Venöse Plasmakonzentrationen an Interleukin-6 werden als ein sensibler Marker zur frühen Aufdeckung einer Neugeboreneninfektion in den ersten Lebensstunden beschrieben (Messer 1996; Buck 1994). Buck beschreibt Interleukin-6 als einen

sensitiven Parameter zur frühen Diagnostik einer neonatalen bakteriellen Infektion. Untersucht wurden durch ihn die Neugeborenen, die mit Verdacht auf Infektion auf die neonatale Intensivstation aufgenommen wurden. Im Gegensatz zu unserer Studie wurden hier die Untersuchungen bei den Neugeborenen selbst und in begründeten Verdachtsfällen durchgeführt. Die Sensitivität bei Sepsisfällen betrug 73% und bei den Fällen mit klinischem Verdacht auf eine Infektion 87%. Im Vergleich dazu bestand für das parallel mitbestimmte CRP eine Sensitivität bei der erstgenannten Fallgruppe eine Sensitivität von ebenfalls 73% und für die zweite Fallgruppe eine Sensitivität von 60 %. Wurde die Bestimmung beider Parameter gemeinsam eingesetzt, so konnte die Sensitivität auf insgesamt 100 % gesteigert werden. Die Kombination einer CRP- und Interleukin-6-Bestimmung scheint ideal zu sein, um die Infektion auf einer neonatalen Intensivstation frühzeitig zu erkennen (Buck-C, 1994). Buck unternahm als erster den Versuch, mit Hilfe der Bestimmung von Interleukin-6 im Serum der auf die Intensivstation verlegten Kinder, eine Infektion auch in den Fällen zu erkennen, in denen die Blutkulturen negativ waren. Auch wenn er auf die Bedeutung der Interleukin-6 Bestimmungen im Verbund mit der CRP-Bestimmung hinsichtlich der Geschwindigkeit der Diagnostik hinweist, so fehlt doch die Analyse der Spezifität der von ihm untersuchten Parameter. Interessanterweise hatte er die Gelegenheit, den Verlauf der Interleukin-6-Konzentrationen zu beobachten. Waren in vielen Fällen diese Konzentrationen bei Aufnahme noch erhöht, so rangierten viele IL-6-Werte 24 Stunden später schon im Normalbereich. Aufgrund der ausgeprägten Kinetik geht Buck nicht davon aus, daß der absolute IL-6-Wert eine prognostische Aussagekraft besitzt. Für die Bestimmung von Interleukin-6 kurz nach der Geburt wird mit einem Cut-off-level von 100pg/ml eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 92,3% angegeben. Für das CRP wurde eine Sensitivität von 45 % bestimmt. Allerdings ist der Ursprung der Proben nicht klar definiert und die Zuordnung zum Ereignis Infektion nicht eindeutig (Messer 1996). In einer weiteren Studie wurden das Nabelschnurblut von frühgeborenen Kindern auf ihre Interleukin-6-Konzentration hin untersucht. Mit einer Sensitivität von 0,57 und einer Spezifität von 0,78 errechneten die Autoren bei einem Grenzwert von 50 pg/ml die prädiktive Aussagekraft dieser Interleukin-6-Bestimmungen in Bezug auf schwere Frühkomplikationen bei diesen Kindern (Weeks 1997). Die hohen Interleukin-6-Konzentrationen sind auf die besondere Auswahl des Kollektives zurückzuführen. Wir schließen uns dem Ausblick von Weeks an, der die Meinung vertritt, daß Bestimmungen des Interleukin-6 aus dem Nabelschnurblut dem Neonatologen eine effektive Hilfe in der Festlegung sein können, bei welchem Kind mit einem hohen Risiko für eine Infektion, eine nekrotisierende Enterokolitis oder einer intraventrikulären Blutung zu rechnen ist. Allerdings erreicht die Interleukin-6-Bestimmung erst bei sehr hohen Grenzwerten eine für diese Aussage zutreffende Spezifität. Der Faktor „Neonatale Infektion“ spiegelt sich in unseren Ergebnissen also nicht deutlich in der Interleukin-6-Konzentration wider. Anders sieht es aus mit dem Faktor „Infektion der Plazenta“: Hier sind die Unterschiede hochsignifikant. Dieses Ergebnis ergänzt die Untersuchungen von Yoon, der einen Zusammenhang zwischen den Interleukin-6-Spiegeln in der Amnionflüssigkeit und der histologisch nachgewiesenen Chorioamnionitis feststellte (Yoon 1996). Bei solchen Plazentainfektionen ist in der Nabelschnur bei hohen Interleukin-6-Serumspiegeln keine Expression von Interleukin-6-mRNA durch Nabelschnur-Monozyten nachgewiesen worden (Singh 1996). Diese Lücke wird durch die Hypothese geschlossen, daß das Interleukin-6 bei der floriden histologisch nachgewiesenen Chorioamnionitis plazentaren und nicht fetalen bzw. neonatalen Ursprungs ist. Derzeit kann also gesagt werden, daß ein hoher Interleukin-6-Spiegel im Nabelschnurblut ein guter Marker für eine Chorioamnionitis aber nicht für eine fetale oder neonatale Infektion ist. Inwieweit auch dieses von der Plazenta freigesetzte Zytokin selbst toxisch für die Neugeborenen ist, ist im Moment unklar.

4.3.2 Interleukin-8

Steigende Interleukin-8-Serumspiegel bei der Mutter können ein Marker für eine histologisch nachweisbare Chorioamnionitis am Termin sein (Shimoya 1997). Ebenfalls erhöht ist das Interleukin-8 im Fruchtwasser, wenn eine Chorioamnionitis vorliegt (Steinborn 1994; Puchner 1993). In vitro sind fetale Membranen in der Lage, Interleukin-8 zu produzieren (Fortunato 1995). Die Stärke der Interleukin-8-Antwort der Amnionzellen in vitro ist abhängig von der Art der auslösenden Bakterien (Riesenberger 1998). Eine Erhöhung der Interleukin-8-Konzentration im venösen Blut von Neugeborenen bei Verdacht auf Infektion ist beschrieben worden (Edgar 1994). Diese Voruntersuchungen zeigen einen Zusammenhang zwischen der intrauterinen Infektion und der Freisetzung von Interleukin-8 auf.

Nach unseren Untersuchungen korrelieren die Interleukin-8-Konzentrationen im Nabelschnurblut stark mit G-CSF, Procalcitonin und dem Interleukin-6, erheblich schwächer mit dem CRP. Im Zusammenhang mit einer Infektion steigen die Interleukin-8-Konzentrationen im Fruchtwasser und

im Nabelschnurblut erheblich (Stallmach 1995). Auch nach unseren Untersuchungen sind die Interleukin-8-Konzentrationen in der Nabelschnur sowohl bei präpartal geäußertem Verdacht auf Infektion als auch bei Nachweis der Infektion an der Plazenta oder auch klinisch am Neugeborenen deutlich erhöht. In unserer Studie konnten wir einen Zusammenhang zwischen der Interleukin-8-Konzentration im Nabelblut und dem Gestationsalter allerdings nicht feststellen. Dadurch kann die nachfolgende autokrin oder parakrin induzierte IL-8-Antwort gebremst sein.

4.3.3 Tumor-Nekrose Faktor α

TNF- α ist in niedrigen Konzentrationen im Fruchtwasser unter physiologischen Bedingungen enthalten. Mit Beginn der Wehentätigkeit steigt die Konzentration an TNF- α im Fruchtwasser deutlich an. Dieser Befund zeigte sich auch in all den Fällen ohne Anzeichen einer Infektion. Eine Korrelation zwischen TNF- α und Interleukin-6 wird im Fruchtwasser beschrieben (Opson 1993). Der Anstieg an TNF- α im Fruchtwasser spiegelt somit vermutlich einen physiologischen Anteil des TNF- α an der Entwicklung der normalen Wehentätigkeit wider. Auch für das TNF- α kann festgestellt werden, daß dieses sowohl von Früh- als auch von Reifgeborenen in relevanten Konzentrationen gebildet werden kann. Während in den von uns untersuchten Fällen einer neonatalen Infektion keine Korrelation zwischen der TNF- α -Konzentration im Nabelblut und einer neonatalen Infektion festzustellen war, sind bei anderen Untersuchungen Assoziationen zwischen der TNF- α -Konzentration mit dem Auftreten einer gramnegativen Sepsis sowohl bei reifgeborenen als auch bei frühgeborenen Kindern festgestellt worden (Williams-PA, 1993; Girardin-EP, 1990).

In unserer Untersuchung findet sich keine Korrelation zwischen TNF- α und Interleukin-6 oder Interleukin-8. Die Bestimmung von TNF- α im Nabelblut dient nicht der Aufdeckung einer neonatalen Infektion.

4.3.4 G-CSF

G-CSF ist in seiner spezifischen Wirkung auf hämatopoetische Zellen der neutrophilen Granulozytenlinie am besten untersucht. Es ist in der Lage, diese Zellen in der Proliferation, Differenzierung und Aktivierung stimulierend zu beeinflussen (Demitri 1991). Der hämatopoetische Wachstumsfaktor G-CSF ist neben ihrer Funktion der Entwicklungsinduktion von Granulozyten und Makrophagen für die Reifung dieser Zelllinie verantwortlich. Diese Reifung schließt die Chemotaxis (Wang 1988), die Phagozytose (Roilides 1991) und die Expression von membranständigen Oberflächenrezeptoren ein (Buckle 1989). Außerdem verändert das G-CSF die Rezeptorexpression auf der Zelloberfläche der Granulozyten (Griffin 1990). Klinisch wird das G-CSF zur Therapie der Neutropenie nach Chemotherapie eingesetzt. Ebenfalls hat es einen günstigen Effekt auf die chronische Neutropenie nach Knochenmarktransplantation (Felser 1994). Wegen der mangelnden Reife der Makrophagen des Neugeborenen und der geringen Anzahl findet die Therapie mit G-CSF vermehrt Einzug bei der Behandlung der neonatalen Sepsis (Roberts 1991). Im Serum gesunder Erwachsener ist das G-CSF nicht nachweisbar (Cebon 1988).

Im Gegensatz dazu liegt der Median an G-CSF im Nabelschnurblut Neugeborener bei 92,6 pg/ml. Wir können die Untersuchung von Bailie bestätigen, daß Frühgeborene erhöhte Level an G-CSF aufweisen (Bailie 1994). Es besteht eine schwach negative Korrelation zwischen den G-CSF-Konzentrationen und dem Gestationsalter bei Geburt ($p < 0,005$). Dieser Zusammenhang scheint die Bedeutung des G-CSF für die Reifung des kindlichen Immunsystems aufzudecken. Je unreifer das Kind noch ist, desto weniger Makrophagen und Granulozyten sind herangereift und desto höher muß die Konzentration an G-CSF sein, um diesen Mangel auszugleichen. Neben dieser Reifungsfunktion ist das G-CSF ganz eindeutig aber auch in die Prozesse der Infektabwehr eingebaut. G-CSF ist in wirksamen Konzentrationen im Nabelschnurserum nachweisbar (Bailie 1994; Gessler 1993). Die diagnostische Nutzbarkeit für den Nachweis einer Neugeboreneninfektion wird diskutiert (Kennon 1996; Ichijo 1995). Signifikant ansteigende Plasmaspiegel an G-CSF bei Neugeborenen mit sich entwickelnder Infektion konnten nachgewiesen werden. Im Falle der Sepsis liegen die Plasmaspiegel allerdings nicht höher als bei nicht septischen Verläufen (Shimada 1996). Im Gegensatz zu Shimada führten wir die Untersuchungen nicht im Serum der Neugeborenen statt, sondern direkt nach der Geburt im Nabelblut. Die G-CSF-Konzentrationen im Nabelschnurblut korrelieren nach unseren Untersuchungen hochgradig mit den Konzentrationen an Interleukin-6 ($p < 0,001$) und Interleukin-8 ($p < 0,001$). Allerdings verbessert die Bestimmung des G-CSF im Nabelschnurblut die Frühdiagnostik der neonatalen Infektion nicht.

Im Nabelschnurblut sind aber nicht nur die Zytokine als Parameter zur Aufdeckung einer neonatalen Infektion beschrieben worden. Das C-reaktive Protein ist in der Infektionsdiagnostik im Serum verdächtig erkrankter Neugeborener etabliert. Im Gegensatz zu der etablierten Bestimmung im Serum der auf die Neugeborenenstation verlegten Kinder führten wir die Untersuchung im Nabelschnurblut durch. Außerdem erfolgte der Nachweis mit einem hochsensitiven Untersuchungsskit.

Außerdem konnte eine Bestimmung der Konzentrationen an Procalcitonin durchgeführt werden.

4.3.5 C-Reaktives Protein (hochsensitiv)

Die CRP-Bestimmung ist für die Verlaufsbeobachtung von neonatalen Infektionen unerlässlich. Zur Entdeckung einer Infektion im Verlauf eines stationären Aufenthaltes liegt der negativ prädiktive Wert bei 99% für Reifgeborene bzw. bei 97,8% für Frühgeborene. Die Sensitivität liegt bei 61,5% für Reifgeborene bzw. bei 75% für Frühgeborene (Kawamura-M, 1995). Betont werden muß aber, daß die alleinige Bestimmung des CRP bei Aufnahme von fraglich an einer Infektion erkrankten Neugeborenen auf die Kinderstation keine große Aussagekraft besitzt. Die Sensitivität der CRP-Bestimmung bei Aufnahme schwankt nach Schweregrad der Infektion zwischen 16 und 29% Damit ist sein Wert für die Frühdiagnostik eine Infektion des Neugeborenen gering (Mathers 1987)

Eine andere Untersuchung bei Frühgeborenen < 30 SSW zeigt eine Sensitivität für das CRP in Höhe von 62,7% am ersten Tag der Sepsis. Die Spezifität liegt bei 87,2% und der negative prädiktive Wert bei 92,2% (Wagle-S, 1994).

Ebenso wichtig ist die serielle CRP-Bestimmung für die Verlaufsbeobachtung einer neonatalen Sepsis. Bei einer einmaligen Bestimmung des CRP betrug die Sensitivität für die Fälle mit einer positiven Blutkultur 55%, mit der dreimaligen Bestimmung innerhalb von 24 Stunden nach Aufnahme der Kinder konnte die Sensitivität auf 74 % gesteigert werden. Im Verhältnis dazu hatte die Bestimmung der Leukozytenzahl eine Sensitivität von 57 %. Wenn mehrere CRP-Messungen hintereinander negative Werte aufweisen, kann die Antibiotikatherapie beendet werden (Pourcyrus-M, 1993). Im Gegensatz zu diesen Studie führten wir die CRP-Bestimmung im Nabelschnurblut und nicht im venösen Blut des Neugeborenen. Außerdem verwendeten wir einen hochsensitiven Kit zum Nachweis des C-reaktiven Proteins. Mit einer Sensitivität von 58,3% und einer Spezifität von 90,4 % weist das im Nabelblut bestimmte CRP auf eine neonatale Infektion des Neugeborenen hin. Hier ist zu beachten, daß die Schwellenwerte für diese Untersuchungen deutlich niedriger liegen als bei den herkömmlichen CRP-Bestimmungen. Der Median des CRP in der gesunden Gruppe beträgt 0,02 mg/dl gegenüber 0,061 mg/dl in der Gruppe „Neonatale Infektion“.

4.3.6 Procalcitonin

Für den Zusammenhang zwischen der Konzentration an Procalcitonin im Serum Neugeborener und einer Infektion des Kindes gibt es bislang nur sehr wenig Daten. Das Procalcitonin steigt bei neonatalen Infektionen schneller im Serum an und fällt ebenso schnelle ab als das C-reaktive Protein (Jaye-DL, 1997). Sehr hohe Serumkonzentrationen an Procalcitonin werden in all denen Neugeborenen gemessen, die eine mikrobiologisch nachgewiesene oder klinisch diagnostizierte bakterielle Infektion hatten. Diese im Serum von Neugeborenen gemessenen Procalcitoninwerte zeigen den Wert in der frühen Diagnose einer bakteriellen neonatalen Infektion auf (Gendrel 1996). Die von uns in der Nabelschnur bestimmten Procalcitoninkonzentrationen gehen mit einer Sensitivität von 93,3% und einer Spezifität von 73,1 % in Bezug auf das Ereignis „neonatale Infektion“ einher. Procalcitonin ist damit der aussagekräftigste Parameter unter den von uns in der Nabelschnur untersuchten. Die Stärke der Procalcitonin-Bestimmung im Nabelblut zur Frühdiagnostik der neonatalen Infektion kommt auch darin zum Ausdruck, daß es auch bei einer histologisch nachgewiesenen Infektion der Plazenta, bei einem länger zurückliegendem Blasensprung und auch bei Frühgeburten signifikant erhöht im Nabelblut nachweisbar war. Das Procalcitonin ist unter den von uns untersuchten löslichen Parametern im Nabelblut derjenige, der offensichtlich am frühesten und am sichersten eine Infektion des Neugeborenen anzeigt.

Hohe Interleukin-6-Konzentrationen deuten also auf ein perinatal gravierendes Ereignis hin, welches in letzter Konsequenz dramatische Komplikationen nach sich ziehen kann. Zum Aufspüren einer unerkannten neonatalen Infektion ist allerdings die Bestimmung von Procalcitonin, am besten in Kombination mit einem einem hochsensitiven CRP-Nachweisverfahren mit einer dann bestehenden Sensitivität von 100 % besser geeignet.

4.4 Zusammenhang zwischen präpartaler klinischer Symptomatik und der Infektionsdiagnostik im Nabelschnurblut

Die präpartal festgestellten klinischen Veränderungen, die auf ein Amnioninfektionssyndrom hindeuten, wurden zu den im Nabelschnurblut bestimmten Infektparametern ins Verhältnis gesetzt.

Procalcitonin ist der einzige Faktor im Nabelblut, der sowohl bei einer vorgeburtlichen fetalen Tachykardie als auch bei einer präpartal bestehenden mütterlichen Temperatur- oder CRP-Erhöhung erhöht war. Interleukin-6 und Interleukin-8 waren erhöht nachweisbar bei präpartaler fetaler Tachykardie und bei mütterlicher Temperaturerhöhung. Nur bei einzelnen präpartal pathologischen Parametern waren das hochsensitiv bestimmte CRP und das G-CSF im Nabelblut erhöht.

Das Procalcitonin stellt sich damit auch in Bezug auf die vorgeburtlich erhobene Symptomatik eines Amnioninfektionssyndromes als ein sehr empfindlicher Parameter dar.

4.5 Potentielle Gefährdung des Zentralnervensystems des Kindes durch T-Zell-Antwort

Die erhöhten Konzentrationen der oben beschriebenen Infektparameter sind Bestandteil einer T-Zell-vermittelten Immunantwort des Neugeborenen bzw. auch schon des Ungeborenen auf eine bakterielle Infektion. In jüngster Zeit wird diskutiert, daß eben diese T-Zell-vermittelte Antwort eine Beeinträchtigung cerebraler Funktionen oder gar eine Schädigung von Hirnstrukturen zur Folge haben kann.

Schon eine vorgeburtlich festgestellte Erhöhung der Konzentration des Zytokins Interleukin-6 im Fruchtwasser zeigt eine erhebliche Gefährdung des noch ungeborenen Kindes an. Für den Nachweis einer neonatalen Erkrankung im Sinne einer neonatalen Sepsis, eines RDS-Syndroms, einer Pneumonie, einer intraventrikulären Blutung, einer bronchopulmonalen Dysplasie oder einer nekrotisierenden Enterocolitis besteht eine Sensitivität von 69% und eine Spezifität von 79%. Diese Zahlen sind deutlich höher für die Interleukin-6-Bestimmung als für die mikrobiologische Kultur aus dem Fruchtwasser (Yoon-BH, 1995). Die abnormale Produktion von Zytokinen im Zusammenhang mit intrauterinen Infektionen wird in Verbindung mit Hirnschädigungen während der Entwicklung des ZNS gebracht. Dabei können diese erhöhten Konzentrationen an Zytokinen sowohl den Schädigungsprozeß initiieren als auch eine vorbestehende Schädigung (z.B. hypoxiebedingt) verstärken. Die Folgen der Zytokineinwirkungen auf das ZNS müssen nicht unbedingt morphologisch nachweisbar sein, können sich aber funktionell niederschlagen (Adinolfi 1993).

Damman stellt die Hypothese auf, daß die proinflammatorischen Zytokine Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor-Alpha die Verbindung darstellen zwischen einer pränatalen intrauterinen Infektion und einem neonatalen Hirnschaden (Damman-O, 1997). Die zellvermittelte Immunantwort soll das Kind vor der lebensbedrohenden perinatalen Infektion schützen und kann es gleichzeitig in erheblichem Maße für das Leben schädigen

5 Zusammenfassung

5.1 Einleitung und Fragestellung

Ausgehend von einer unspezifischen bakteriellen Infektion kann es während der Schwangerschaft zu einer Infektion der Fruchthöhle kommen. Das volle Bild dieser Art von Infektionen wird Amnioninfektionssyndrom genannt. Bei einem Amnioninfektionssyndrom besteht ein Dilemma, da dieses Krankheitsbild oft während einer Zeit auftritt, zu der die Ungeborenen noch sehr unreif sind. Die Infektion der Fruchthöhle bedroht Mutter und Kind und die sofortige Entbindung würde ein rasches Abklingen der Infektion des Uterus herbeiführen. Auf der anderen Seite würde häufig eine Entbindung zu einem Zeitpunkt induziert, da das Kind zusätzlich zur Infektion durch die Unreife bedroht ist. Die Entscheidung zu diesem Vorgehen wird von drei Parametern abhängig gemacht: Mütterliche Temperaturerhöhung, mütterliche CRP-Erhöhung und fetale Tachykardie. Diese drei Parameter führen einzeln oder in ihrer Gesamtheit zu der Entscheidung über konservatives oder progressives Vorgehen. Daraus ergab sich die erste Frage:

1. Sind die präpartal erhobenen klinischen Zeichen eines Amnioninfektionssyndromes relevant in der Diagnostik einer konnatal erworbenen neonatalen Infektion?
Die Auseinandersetzung des Feten mit einer bakteriellen Infektion kann schon intrauterin erfolgen. Aufgrund der verzögerten Reife der B-Zell gebundenen humoralen Immunität ist das Neugeborene bei der Abwehr bakterieller Infektionen auf die T-Zell vermittelte Abwehrreaktion angewiesen. Hierzu ist die rechtzeitige Produktion und Freisetzung inflammatorischer Zytokine durch den Feten selbst bzw. durch das Neugeborene erforderlich.
2. Sind die immunkompetenten Zellen des Neugeborenen in der Lage, inflammatorische Zytokine zu produzieren?
Neonatale Infektionen sind eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität der neugeborenen Kinder. Die Erkennung der Infektion Neugeborener ist eine schwierige Aufgabe. Blutkulturen sind häufig steril, auch beim Vorliegen einer Meningitis, Pneumonie oder gar einer generalisierten Infektion des Neugeborenen. Zusätzlich verschleiert der gerechtfertigte frühe Einsatz von Antibiotika die Nachweismöglichkeiten von Bakterien. Letztendlich hängt die Diagnose von der klinischen Untersuchung und der Erfahrung des Neonatologen ab. Eine Fülle von Laboruntersuchungen inklusive verschiedener Leukozyten-Indizes und die Bestimmung unterschiedlicher Akute-Phase-Proteine sind auf ihre Früherkennung von neonatalen Infektionen evaluiert worden. Die Unfähigkeit dieser Screening-Untersuchungen, definitive Richtlinien zur frühen Erkennung der neonatalen Infektion geben zu können, macht die Suche nach geeigneten Parametern erforderlich.
3. Gibt es lösliche Faktoren im Nabelschnurblut, die die Diagnostik einer Infektion des Neugeborenen entscheidend verbessern und die einen Zusammenhang mit einer Infektion der Plazenta aufweisen?
Die präpartal festgestellte Infektion der Fruchthöhle kann zu einer immunologischen Reaktion des Feten führen, die dann im Nabelschnurblut nachweisbar sein muß. Diese Faktoren entsprechen denjenigen, die bei einer Infektion des Neugeborenen im Serum nachgewiesen werden. Außerdem müßte bei einem starken Ausprägungsgrad der präpartalen Infektion auch der Nachweis dieser Faktoren im Nabelblut im höheren Maße möglich sein.
4. Besteht ein Zusammenhang zwischen der präpartalen klinischen Symptomatik eines Amnioninfektionssyndromes und den infektionsabhängigen löslichen Parametern im Nabelblut?

5.2 Material und Methode

Es wurden zwei prospektive Studien zur Beantwortung der Fragestellung durchgeführt. Im Rahmen der ersten Studie wurden 511 Fälle analysiert. Es fand eine Evaluierung der präpartalen klinischen Parameter bezogen auf das Ereignis neonatale Infektion und histologisch gesicherte Infektion der Plazenta statt. Die Konzentrationen der Zytokine Interleukin-6, Interleukin-8, Tumornekrosefaktor- α , G-CSF und der laborchemischen Parameter C-reaktives Protein und Procalcitonin wurde im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt bestimmt. Diese Konzentrationen wurden in Bezug gesetzt zu klinischen Anzeichen einer Infektion des Neugeborenen und histologischen Zeichen einer Infektion der Plazenta. Außerdem wurden sie in Bezug gesetzt zu den präpartalen Symptomen eines Amnioninfektionssyndromes.

In einer zweiten Studie wurden 42 Fälle analysiert. Mittels Durchflußzytometrie wurden Zellen aus Vollblut isoliert. Isoliert wurde die T-Zellpopulation CD 4 und CD 8 der Lymphozyten untersucht. Eine intrazytoplasmatische Zytokinbestimmung nach Stimulation mit Ionomycin und Phorbol-12,13-Dibutyrate unter Verwendung von Monensin wurde durchgeführt. Bestimmt wurde die intrazytoplasmatische Zytokinfreisetzung der Zytokine Interleukin-6 und Interleukin-8.

5.3 Ergebnisse

Die präpartalen Symptome mütterliche Temperaturerhöhung, mütterliche CRP-Erhöhung und fetale Tachykardie haben nur eine begrenzte Aussagekraft im Hinblick auf das Ereignis Neonatale Infektion. Während für die präpartal festgestellte fetale Tachykardie und die mütterliche Temperaturerhöhung eine Sensitivität für die „Neonatale Infektion“ von 28,6 % bestimmt wurde, liegt dieser Wert für die präpartale mütterliche CRP-Erhöhung bei 45,5% deutlich höher. Demgegenüber liegt die Spezifität bei fetaler Tachykardie und mütterlicher Temperaturerhöhung zwischen 95 und 98% und für die mütterliche CRP-Erhöhung bei 64 %.

Die aus dem Nabelblut isolierten Lymphozyten sind in der Lage, auf eine unspezifische Stimulation hin, Interleukin-8 und Interleukin-6 zu produzieren. Signifikant höher liegt die Sekretion an Interleukin-6 dann, wenn die Kinder mit dem Verdacht auf eine peripartale Infektion geboren wurden oder wenn infektionsrelevante Ereignisse vor der Geburt aufgetreten waren. Außerdem sind sämtliche untersuchten Lymphozyten Neugeborener in der Lage, erheblich höhere Konzentrationen an Interleukin-8 zu produzieren. Von den im Nabelschnurblut untersuchten löslichen Parametern fällt auf, daß Procalcitonin mit einer Sensitivität von 93,3% und einer Spezifität von 73,1% ein sehr zuverlässiger Parameter zur Diagnostik einer neonatalen Infektion darstellt. Mit einer Sensitivität von 58,3% und einer Spezifität von 90,4% hebt sich auch der hochsensitive Nachweis des CRP im Nabelblut noch deutlich von den herkömmlich verwendeten Parametern ab. Nur eingeschränkte Aussagekraft auf das Ereignis „Neonatale Infektion“ hat die Bestimmung des Interleukin-6. Das Procalcitonin ist auch bei allen präpartalen Symptomen einer intrauterinen Infektion signifikant erhöht, Interleukin-6 und Interleukin-8 nur bei jeweils zwei Symptomen.

5.4 Diskussion

Die kombinierte Betrachtung der präpartal erhobenen klinischen Parameter fetale Tachykardie, mütterliche Temperaturerhöhung und mütterliche CRP-Erhöhung verbessert die vorgeburtliche Diagnostik einer intrauterin bestehenden Infektion deutlich.

Der Nachweis der intrazellulären Interleukin-6- und Interleukin-8-Produktion durch neonatale Lymphozyten zeigt die Fähigkeit der zellvermittelten Immunität des Neugeborenen schon vor der Geburt auf bakterielle Infektionen reagieren zu können. Die differenzierte Reaktionsfähigkeit zeigt sich in der gesteigerten Interleukin-6-Syntheseleistung in all den Fällen, die in die „Infektionsgruppe“ eingeschlossen waren.

Von den löslichen Infektparametern, die im Nabelblut direkt nach der Geburt untersucht wurden, sticht das Procalcitonin als sehr zuverlässiger Marker sowohl einer Infektion des Neugeborenen als auch der histologisch gesicherten Infektion der Plazenta hervor. Der Nachweis des C-Reaktiven Proteins mit einem hochsensitiven Kit führt zu einer gesteigerten Aussagekraft auch dieses Parameters. Die kombinierte Bestimmung dieser beiden Parameter im Nabelschnurblut führt zu einer deutlichen Verbesserung und Beschleunigung der Diagnose einer neonatalen bakteriellen Infektion des Neugeborenen. Das empfindliche Ansprechen des Procalcitonin auf erste Anzeichen

einer Infektion wird auch durch den erhöhten Nachweis des Procalcitonin in all den Fällen deutlich, in denen vorgeburtlich schon einzelne Symptome einer intrauterinen Infektion vorlagen.

Mit der kombinierten Betrachtung der vorgeburtlichen klinischen Symptome einer intrauterinen Infektion ist eine große Entscheidungshilfe hinsichtlich der Festlegung des Geburtstermins gegeben. Gerade in den Fällen, in denen schon vor der Geburt der Verdacht auf eine intrauterine Infektion des Kindes vorliegt, bietet sich eine Bestimmung von Procalcitonin und hochsensitiv nachgewiesenem CRP an. Auch Interleukin-6 sollte bestimmt werden. Die nachgewiesene Möglichkeit des Neugeborenen, inflammatorische Zytokine in hohen Konzentrationen als Antwort auf eine bakterielle Invasion produzieren zu können, scheint auch die Gefahr in sich zu bergen, durch eben dieses Interleukin-6 eine cerebral schädigende Reaktion zu erfahren. Zur Abschätzung dieses Risikos ist eine Bestimmung des Interleukin-6 im Nabelschnurblut empfehlenswert.

Literaturverzeichnis

- 1 Bühl A; Zöfel P.: SPSS für Windows Version 6.1. Addison-Wesley-Verlag, 1996
- 2 Burman L G; Christensen P; Christensen K; Fryklund B; Helgesson A M; Svenningsen N W; Tullus K: Lancet. 1992, 340, S.65-9,
- 3 Nagata S: The Cytokine Handbook, 2nd edition. Academic Press, A. Tomson, ed., New York, S.371,
- 4 Nagata S: Peptide Growth Factors and Their Receptors. Sporn, M B and A B Roberts eds.; Springer Verlag, New York, 1990 S.190,
- 5 Dong Y; St. Clair P J; Ramzy I; Kagan-Hallet K S; Gibbs R S: A microbiologic and clinical study of placenta inflammation at term. Obstet Gynecol. 1987, 70, S.175-82,
- 6 Senju O, Takagi Y, Uzawa R, Iwasaki Y, Suzuki T, Gomi K, Ishii T: A new immuno quantitative method by latex agglutination of serum C-reactive Protein (CRP) and ist clinical significance. J Clin Lab Immunol. 1986, 19, S.99-103,
- 7 Rubatelli A; Cozzolino F; Talio M; Sitia R: A novel secretory pathway for interleukin-1 beta, a protein lacking a signal sequence. EMBO Journal. 1990, 9, S.1503-10,
- 8 Itakura A; Kurauchi O; Morikawa K; Mizutani S; Tomoda Y: A prospective study on the relationship between intrapartum maternal group-B streptococcal concentration and signs of infection in neonates. J-Obstet-Gynaecol-Res. 1996, 22, S.101-5,
- 9 Almeida L; Schmauch A; Bergstrom S: A randomised study on the impact of peroral amoxicillin in women with prelabour rupture of membranes preterm. Gynecol-Obstet-Invest. 1996, 41(2), S.82-4,
- 10 Pepys M B; Baltz M L: Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. Adv Immunol. 1983, 34, S.141-212N,
- 11 Koy A: Acute phase reactants: their synthesis, turnover and biological significanceIn: Allison-AC, ed. Structure and Function of Plasma Protein. New York: Plenum Press. 1974, 1, S.73-125,
- 12 Springer T A: Adhesion receptors of the immune systeme. Nature. 1990, 346, S.425-434,
- 13 Mandrup-Poulsen T; Bendtzen K; Nerup J, Dinarello C A; Svenson M; Nielsen J H: Affinity-purified human interleukin I ist cytotoxic to isolated islets of Langerhans. Diabetologia. 1986, 29, S.63-7,
- 14 Fortunato S J; Menon R, Swan K F: Amniochorion: a source of Interleukin-8. Am J Reprod Immunol. 1995, 34, S.156-62,
- 15 Romero R; Yoon B H; Kenney J S; Gomez R; Allison A C; Sehgal P B: Amniotic fluid interleukin-6 determinations are of diagnostic and prognostic value in preterm labor. Amniotic fluid interleukin-6 determinations are of diagnostic and prognostic value in preterm labor. 1993, 30, S.167-83,
- 16 Romero R; Avila C; Santhanam U; Sehgal P B: Amniotic fluid interleukin-6 in preterm labor. J Clin Invest. 85, S.1382-1400,
- 17 Greig P C; Ernest M; Teot L; Erikson M; Talley R: Amniotic fluid interleukin-6 levels correlate with histologic chorioamnionitis and amniotic fluid cultures in patients in premature labor with intact membranes. Am J Obstet Gynecol. 1993, 169, S.1035-44,
- 18 Yoon B H; Romero C J; Jun J K; Gomez R; Choi J H; Syn H C: Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. Am J Obstet Gynecol. 1995, 172, S.960-70,

- 19 Andrews W W; Hauth J C, Goldenberg R L, Gomez R, Romero R, Cassell G H: Amniotic fluid interleukin-6: Correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1995, 173, S.606-12,
- 20 Puchner T; Egartner C; Wimmer C; Lederhilger F; Weichelbraun I: Amniotic fluid interleukin-8 as a marker for intraamniotic infection. *Arch Gynecol & Obstetr.* 1993, 253, S.9-14,
- 21 Nadisauskiene R; Bergstrom S; Kilda: Ampicillin in the treatment of preterm labor: a randomised, placebo-controlled study. *Gynecol Obstet Invest.* 1996, 41, S.89-92,
- 22 Ohlsson A; Wang E: An analysis of antenatal tests to detect infection in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 162, S.809-18,
- 23 Yelavarthi K K; Hunt J S: Analysis of p60 and p80 tumor necrosis factor-alpha receptor messenger RNA and protein in human placentas. *Am J Pathol.* 1993, 43, S.1131-41,
- 24 Mercer B M; Arheart K L: Antimicrobial therapy in expectant management of preterm premature rupture of the membranes [see comments]. *Lancet.* 1995, 346, S.1271-9,
- 25 Stallmach T; Károlyi L: Augmentation of fetal granulopoiesis with chorioamnionitis during the second trimester of gestation. *Human Pathol.* 1994, 25, S.244-7,
- 26 Kawano M; Hirano T; Matsuda T; Taga T; Horii Y; Iwato K et al: Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature.* 1988, 332, S.83-85,
- 27 Takia Y; Wong G G; Clark S C; Burakoff S J; Hermann S H: B cell stimulatory factor-2 is involved in the differentiation of cytotoxic T-lymphocytes. *J Immunol.* 1988, 140, S.508-512,
- 28 Saling E: Basic aspects of prematurity prevention and results achieved by a suitable, simple program. *J Perinat Med.* 1998, 26, S.466-8,
- 29 Hirano T; Akira S; Taga T; Kishimoto T: Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today.* 1990, 11, S.443-9,
- 30 Drews K; Szczapa J; Zak J; Andrzejewska R; Zak L; Mackiewicz A: Blood serum concentration of C-reactive protein and interleukin-6 in diagnosis of neonatal infection. *Ann NY Acad Sci.* 1995, 762, S.398-399,
- 31 Paneth N; Rudelli R; Kazam E; Monte W: *Brain Damage in the Preterm Infant.* MacKeith Press, London. 1994, S.171-185,
- 32 Murphy D J; Sellers S; MacKenzie I Z; Yudkin P L; Johnson A M: Case-control study of antenatal and intrapartum risk factors for cerebral palsy in very preterm singleton babies. *Lancet.* 1995, 346, S.1449-54,
- 33 Sims J E; March C J; Cosman D; Widmer M B; MacDonald H R; McMahan C J; Grubin C E; Wignall J M; Jackson J L; Call S M et al: cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin superfamily. *Science.* 1988, 24, S.585-9,
- 34 Lotz M; Jirik F; Kabouridis P; Tsoukas C; Irano T; Kishimoto T; Carson D A: Cell stimulating factor 2/interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med.* 1988, 167, S.1253-8,
- 35 Jackson R J; Dao M L; Lim D V: Cell-associated collagenolytic activity by group B streptococci. *Infect Immun.* 1994, 62, S.5647-51,
- 36 Griffin J D; Demetri G D; Kanakura Y; Cannistra S A; Ernst T J: Cellular interactions regulating the production of colony-stimulating factors. *Progr Clinical Biolog Res.* 1990, 338, S.129-41,
- 37 Nickoloff B J; Karabin G D; Baker J N W N: Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumour necrosis factor-alpha, in psoriasis. *Am J Pathol.* 1991, 138, S.129-40,
- 38 Greenberg D N; Yoder B A: Changes in the differential white blood cell count in screening for group B streptococcal sepsis. *Pediatr Infect Dis J.* 1990, 9, S.886-9,

- 39 Matsuda K; Tsutsumi H; Sone S; Yoto Y, Oya K; Okamoto Y, Ogra P L; Chiba S: Characteristics of IL-6 and TNF-alpha production by respiratory syncytial virus-infected macrophages in the neonate. *J Med Virology*. 1996, **48**, S.199-203,
- 40 Eschenbach C: Chemiluminiszenz phagozytischer neutrophiler Granulozyten von Neugeborenen mit bakteriellen Infektionen. *Mschr Kinderheilk*. 1981, **129**, S.640,
- 41 Beri R; Lourwood D L: Chemoprophylaxis for group B streptococcus transmission in neonates. *Ann-Pharmacother*. 1997, **31**(1), S.110-2,
- 42 Wang J M; Chen Z G; Colella S, Bonilla M A; Welte K; Bordignon C; Mantovani A: Chemotactic activity of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*. 1988, **72**, S.1456-60,
- 43 FitzSimmons J; Callahan C; Shanahan B; Jungkind D: Chlamydial infections in pregnancy. *J Reprod Med*. 1986, **31**, S.19-22,
- 44 Rouse D J; Hauth J C; Andrews W W; Mills B B; Maher J E: Chlorhexidine vaginal irrigation for the prevention of periparturient infection: a placebo-controlled randomized clinical trial. *Am J Obstet Gynecol*. 1997, **176**, S.617-22,
- 45 Newton E R: Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol*. 1993, **36**, S.795-808,
- 46 Sherman D J; Tovbin J; Lazarovich T; Avrech O; Reif R; Hoffmann S; Caspi E; Boldur I: Chorioamnionitis caused by gram-negative bacteria as an etiologic factor in preterm birth. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1997, **16**, S.417-23,
- 47 Kelly R W; Leask R; Calder A A: Choriondecidual production of interleukin-8 and mechanism of parturition. *Lancet*. 1992, **339**, S.776-777,
- 48 Pilley V; Savage N; Laburn H: Circulating cytokine concentrations and cytokine production by monocytes from newborn babies and adults. *Pflügers Arch*. 1994, **428**, S.197-201,
- 49 Kuster H; Degitz K: Circulating ICAM-1 in neonatal sepsis (Letter).. *Lancet*. 1993, **341**, S.506,
- 50 Cannon J G; Tompkins R G; Gelfand J A; Michie H R; Stanford G G; vd Meer J W M; Endres S; Lonnemann G; Corsetti J; Chernow B; Wilmore D W; Wolff S M; Burke J F; Dinarello C A: Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in the septic shock an experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* . 1990, **161**, S.79-84,
- 51 Cairo M S; Gillan E R; Buzby J S; van de Ven C; Suen: Circulating steel factor (SLF) an G-CSF levels in preterm and term newborn and adult peripheral blood. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1993, **15**(3), S.311-5,
- 52 Jaye D L; Waites K B: Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J*. 1997, **16**, S.735-46,
- 53 Felser J M: Clinical use of hematopoietic growth factors for the control of infections after high-dose chemotherapy. *Ann NY Acad Sci*. 1994, **730**, S.235-42,
- 54 Della-Morte M A; Ratti E; Sala M R; Colombo B: Colonization by group B hemolytic streptococcus in pregnancy. Note of prevention and therapy of the materno-neonatal infection. *Casuistics. Pediatr Med Chir*. 1996, **18**, S.433-50,
- 55 Towers C V; Garite T J; Friedman W W; Pircon R A; Nageotte M P: Comparison of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay test and the Gram stain for detection of group B streptococcus in high-risk antepartum patients [see comments]. *Am J Obstet Gynecol*. 1990, **163**, S.965-7,
- 56 Peakman M; Senaldi G; Liossis G; Gamsu H R; Vergani D: Complement activation in neonatal infection. *Arch Dis Child*. 1992, **67**, S.802-7,
- 57 Hirano T; Yasukawa K; Harada H; Taga T; Watanabe Y; Matsuda T; Kashiwamura S; Nakajima K; Koyama K; Iwamatsu A et al: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B-lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986, **324**, S.73-76,

- 58 Watson J M; Sensintaffar J L; Berek J S; Martinez-Maza O: Constitutive production of interleukin 6 by ovarian cancer cell lines and by primary ovarian tumor cultures. *Cancer Res.* 1990, 50, S.6959-65,
- 59 Negishi H; Yamada H; Mikuni M; Kishida T; Okuyama K; Sagawa T; Makinoda S; Fujimoto S: Correlation between cytokine levels of amniotic fluid and histological chorioamnionitis in preterm delivery. *J Perinat Med.* 1996, 24, S.633-9,
- 60 Smulian J C; Campbell W A; Vintzileos A M; Rodis J F: Correlation between umbilical artery and vein levels of interleukin-6 and soluble intracellular adhesion molecule-1. *J Matern Fetal Med.* 1997, 6, S.67-70,
- 61 Schindler R; Mancill J; Endres S; Ghorbani R; Clark S C; Dinarello C A: Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1 and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood.* 1990, 75, S.40-47,
- 62 Bateille R; Klein B: C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin-6 levels in human in vitro. *Arthritis Rheum.* 1992, 35, S.982-983,
- 63 Wagle S; Graunag A; Kohan R; Evans S F: C-reactive protein as a diagnostic tool of sepsis in very immature babies. *J Paediatr Child Health.* 1994, 30, S.40-4,
- 64 Pepys M B: C-reactive protein fifty years on. *Lancet.* 1981, 1, S.653-656,
- 65 Peltola H; Jaakkola M: C-reactive protein in early detection of bacteremic versus viral infections in immunocompetent compromised children. *J Pediatr.* 1988, 113, S.641-646,
- 66 Riesenberger K; Egarter C; Knofler M; Schiebel I; Gregor H; Hirschl A; Heinze G; Husslein: Cytokine and prostaglandin by amnio cells in response to the addition of different bacteria. *Am J Obstet Gynecol.* 1998, 198, S.50-3,
- 67 Kovacs E J; Beckner S K; Lingo D L; Varesio L; Young H A: Cytokine gene expression during the generation of human lymphokine-activated killer cells: early induction of interleukin 1 beta by interleukin 2. *Cancer Res.* 1989, 49, S.940-4,
- 68 Mitchell M D; Trautmann M S; Donald D J: Cytokine networking in the placenta. *Placenta.* 1993, 14, S.249-275,
- 69 De Werra I; Jaccard C; Corradin S B: Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors and procalcitonin concentrations: Comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock and bacterial pneumonia. *Crit Care Med.* 1997, 25, S.607-613,
- 70 Dudley D J; Trautman M S; Araneo B A; Edwin S S; Mitchell M: Decidual cell biosynthesis of interleukin-6: regulation by inflammatory cytokines. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992, 74, S.884-889,
- 71 Schibler K R; Liechty K W; White W L; Rothstein G; Christensen R D: Defective Production of Interleukin-6 by Monocytes: a possible Mechanism Underlying Several Host Defense Deficiencies of Neonate. *Pediatric Research.* 1992, 31, S.18-21,
- 72 Saito S; Kasahara T; Sakakura S; Umekage H; Harada N; Ichijo M: Detection and localization of interleukin-8 mRNA and protein in human placenta and decidual tissues. *J Reprod Immunol.* 1994, 27, S.161-72,
- 73 De M; Sanford T H; Wood G W: Detection of interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in the uterus during the second half of pregnancy in the mouse. *Endocrinology.* 1992, 131, S.14-20,
- 74 Buyalos R P; Watson J M; Martinez-Maza O: Detection of interleukin-6 in human follicular fluid. *Fertil Steril.* 1992, 57, S.1230-1234,
- 75 Martich G D; Danner B; Ceska M; Suffredini A F: Detection of interleukin-8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of antiinflammatory agents. *J Exp Med.* 1991, 173, S.1021-4,

- 76 Inglis S R; Jeremias J; Kuno K; Lescale K; Peeper Q; Chervenak F A; Witkin S S: Detection of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6 and fetal fibronectin in the lower genital tract during pregnancy: relation to outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1994, *171*, S.5-10,
- 77 Squire E; Favara B; Todd J: Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. *Pediatrics.* 1979, *64*, S.60-64,
- 78 Mathers N J; Pohlandt F: Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection. *Eur J Pediatr.* 1987, *146*, S.147-51,
- 79 De Bont E S; Martens A; van-Raan J; Samson G; Fetter W P; Okken A; de-Leij L H; Kimpen J L: Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and interleukin-6 (IL-6) in newborns with sepsis. *Acta Paediatr.* 1994, *83*, S.696-9,
- 80 Hu X L; Yang Y; Hunt J S: Differential distribution of interleukin-1-alpha and interleukin-1-beta proteins in human placentas. *J Reprod Immunol.* 1992, *22*, S.257-68,
- 81 Laham N; Brennecke S P; Bendtzen K; Rice G E: Differential release of interleukin-6 from human gestational tissues in association with labour and in vitro endotoxin treatment. *J Endocrinol.* 1996, *149*, S.431-9,
- 82 Schibler K R; Trautman M S; Liechty K W; White W L; Rothstein G; Christensen R D: Diminished transcription of interleukin-8 by monocytes from preterm neonates. *J Leukoc Biol.* 1993, *53*, S.399-403,
- 83 Schibler K R; Trautman M S; Liechty K W; White W L; Rothstein G; Christensen R D: Diminished transcription of interleukin-8 by monocytes from preterm neonates. *J Leukoc Biol.* 1993, *53*, S.399-403,
- 84 Brunkhorst F M; Forycki Z F; Beier W; Wagner J: Discrimination of infectious and non-infectious etiologies of adult respiratory distress syndrome with procalcitonin. *Clin. Intens. Care.* 1995, *6 (Suppl.)*, S.3,
- 85 Aranda J V; Cohn S; Neims A M: Drug utilization in a newborn intensive care unit. *J Pediatr.* 1976, *89*, S.315-318,
- 86 Philip A G S; Hewitt J R: Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics.* 1980, *65*, S.1036-40,
- 87 Rodwell R L; Leslie A L; Tudehope D I: Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr.* 1988, *112*, S.761-7,
- 88 Mendoza J C; Roberts J L: Early-onset Hemophilus influenzae sepsis in the neonate. *J Perinatol.* 1991, *11*, S.126-9,
- 89 Garland S M; Kelly N: Early-onset neonatal group B streptococcal sepsis: economics of various prevention strategies. Early-onset neonatal group B streptococcal sepsis: economics of various prevention strategies. 1995, *162*, S.413-7,
- 90 Miyano A; Miyamichi T; Nakayama M; Kitajima H; Shimizu A: Effect of chorioamnionitis on the levels of serum proteins in the cord blood of premature infants. *Arch Pathol Lab Med.* 1996, *120*, S.245-248,
- 91 Taha T E; Biggar R J; Broadhead R L; Mtimavalye L A; Justesen A B; Liomba G N; Chiphangwi J D; Miotti P G: Effect of cleaning the birth canal with antiseptic solution on maternal and newborn morbidity and mortality in Malawi: clinical trial [see comments]. *BMJ.* 1997, *26*, S.220,
- 92 The National Institutes of Health: Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. *NIH Consens Statement.* 1994, *12*, S.1-24,
- 93 Colditz I G: Effect of exogenous prostaglandinE2 and actinomycin D on plasma leakage induced by neutrophil activating peptide-2/interleukin-8. *Immunol Cell Biol.* 1990, *68*, S.397-403N,
- 94 Figueroa R; Martinez E; Sehgal P; Garry D; Patel K; Verma U; Visintainer P; Reale M; Klein S; Tejani N: Elevated amniotic fluid interleukin-6 predicts neonatal periventricular leukomalacia and intraventricular hemorrhage. *Am J Obstet Gynecol.* 1996, *174*, S.330,

- 95 Steinborn A; Gunes H; Roddiger S; Halberstadt E Elevated placental cytokine release, a process associated with preterm labor in the absence of intrauterine infection: Elevated placental cytokine release, a process associated with preterm labor in the absence of intrauterine infection. *Obstet Gynecol.* 1996, 88, S.534-9,
- 96 Rot A: Endothelial cell binding of NAP-1/IL-8: role in neutrophil emigration. *Immunology Today.* 1992, 13, S.291-4,
- 97 Gimbrone M A Jr.; Obin M S; Brock A F; Luis E A; Hass P E; Hebert C A; Yip Y K; Leung D W; Lowe D G; Kohr W J et al: Endothelial Interleukin-8: a novel inhibitor of leukocyte-endothelial interactions. *Science.* 1989, 264, S.1601-3,
- 98 Vogel M: Entzündliche Veränderungen in der Plazenta und ihrer Anhänge. *Entzündliche Veränderungen in der Plazenta und ihrer Anhänge.* 1992, S.91-102,
- 99 Shortland D B; MacFadyen U; Elston A; Harrison G: Evaluation of C. reactive protein values in neonatal sepsis. *J Perinat Med.* 1990, 18, S.157-63,
- 100 Messer J; Eyer D; Donato L; Gallati H; Matis J; Simeoni U: Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr.* 1996, 129, S.574-80,
- 101 Christensen R D; Rothstein G: Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *J Pediatr.* 1982, 96, S.316,
- 102 Fukunaga R; Ishizaka-Ikeda E; Seto Y; Nagata S: Expression cloning of a receptor for murine granulocyte colony-stimulating factor. *Cell.* 1990, 61, S.341-50,
- 103 Larsen A; Davis T; Curtis B M; Gimpel S; Sims J E; Cosman D; Park L; Sorensen E; March C J; Smith C A: Expression cloning of human granulocyte colony-stimulating-factor receptor. A structural mosaic of hematopoietin receptor, immunoglobulin, an fibronectin domains. *J Exp Med.* 1990, 172, S.1559-70,
- 104 Menon R; Swan K F; Lyden T W; Rote N S; Fortunato S J: Expression of inflammatory cytokines (interleukin-1-b and interleukin-6) in amniochorionic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1995, 172, S.493-500,
- 105 Stallmach T; Hebisch G; Joller H; Kolditz P; Engelmann M: Expression pattern of cytokines in the different compartments of the feto-maternal unit unter various conditions. *Reprod Fertil Dev.* 1995, 7, S.1573-80,
- 106 Christensen R D; Rothstein G; Hill R T: Fatal early onset group B streptococcal sepsis with normal leukocyte counts. *Pediatr-Infect-Dis.* 1985, 4, S.242-5,
- 107 Rudbeck-Roge H; Henriques U: Fetal and perinatal infections. A consecutive study. *Pathol Res Pract.* 1992, 188, S.135-40,
- 108 Salafia C M; Sherer D M; Spong C Y; Lencki S; Eglinton G S; Parkash V; Marley E; Lage J M: Fetal but not maternal serum cytokine levels correlate with histologic acute placental inflammation. *Am J Perinatol.* 1997, 14, S.419-22,
- 109 Taniguchi T; Matsuzaki N; Shimoya K; Neki R; Okada T; Kitajima H; Saji F; Tanizawa O: Fetal mononuclear cells show a comparable capacity with maternal mononuclear cells to produce IL-8 in response to lipopolysaccharide in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol.* 1993, 23, S.1-12,
- 110 Mukaida N; Shiroo M; Matsushima K: Genomic structure of human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol.* 143, S.1366-71,
- 111 Lee S W; Tsou A P; Chan H; Thomas J; Petrie K; Eugui E M; Allison A: Glucocorticoids sensitively inhibit the transcription of interleukin 1 beta gene and decrease the stability of interleukin 1 beta mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988, 85, S.1204-8,
- 112 Bailie K E M; Irvine A E; Bridges J M; McClure B G: Granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors in cord maternal serum at delivery. *Pediatr Res.* 1994, 35(2), S.164-8,

- 113 Demetri G D; Griffin J D: Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood*. 1991, *78*, S.2791-808,
- 114 Kennon C; Overturf G; Bessmann S; Sierra E; Smith K J; Brann B: Granulocyte colony-stimulating factor as a marker for bacterial infection in neonates. *J Pediatrics*. 1996, *128*, S.765-9,
- 115 Roilides E; Walsh T J; Pizzo P A; Rubin M: Granulocyte colony-stimulating factor enhances the phagocytic and bacterial activity of normal and defective human neutrophils. *J Infect Dis*. 1991, *163*, S.579-83,
- 116 Christensen R D; Rothstein G; Anstall H B: Granulocyte transfusion in neonates with bacterial infection, neutropenia and depletion of mature marrow neutrophils. *Pediatrics*. 1982, *70*, S.1-6,
- 117 Gibson R L; Lee M K; Soderland C; Chi E Y; Rubens C E: Group B streptococci invade endothelial cells: type III capsular polysaccharide attenuates invasion. *Infect Immun*. 1993, *61*, S.478-85,
- 118 Assciot M; Gendrel D; Carsin H; Raymond J; Guilbaud J; Bohuon C: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1999, *341*, S.518-8,
- 119 Yoshimura T; Robinson E A; Appella E; Matsushima K; Showalter S D; Skeel A; Leonard E J: Three forms of monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) distinguished by different lengths of the amino-terminal sequence. *Mol Immunol*. 1989, *26*, S.87-93,
- 120 Hirano T; Taga T; Yasukawa K; Nakajima K; Nakano N; Takatsuki F: Human B-cell differentiation factor defined by an anti-peptide antibody and its possible role in autoantibody production. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987, *84*, S.228-231,
- 121 Dayer J M; de Rochemonteix B; Burrus B; Demczuk S; Dinarello C A: Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells. *J Clin Invest*. 1986, *77*, S.645-8,
- 122 Benyo D F; Miles T M; Conrad K P: Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997, *82*(5), S.1582-8,
- 123 Xiao J; Garcia-Lloret M; Winkler-Lowen B; Miller R; Simpson K; Guilbert L J: ICAM-1 mediated adhesion of peripheral blood monocytes to the maternal surface of placental syncytiotrophoblasts; implications for placental villitis. *Am J Pathol*. 1997, *150*, S.1845-60,
- 124 Schröder J M; Sticherlin M; Henneicke H H; Preissner W C; Christophers E: IL-1 alpha or tumor necrosis factor-alpha stimulate release of three NAP-1/IL-8 related neutrophil chemotactic proteins in human dermal fibroblasts. *J Immunol*. 1990, *144*, S.2223-32,
- 125 Stoll B J; Lee F K; Hale E; Schwartz D; Holmes R; Ashby R; Czerkinsky C; Nahmias A J: Immunoglobulin secretion by the normal and the infected newborn infant. *J Pediatr*. 1993, *122*, S.780-6,
- 126 Nadisauskiene R; Bergstrom S: Impact of intrapartum intravenous ampicillin on pregnancy outcome in women with preterm labor; a randomised, placebo-controlled study. *Gynecol Obstet Invest*. 1996, *41*, S.85-8,
- 127 Rozycki H J; Stahl G E; Baumgart S: Impaired sensitivity of a single early leukocyte count in screening for neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 1987, *6*, S.440-2,
- 128 Bruce M C; Baley J E; Medvik K A; Berger M: Impaired surface membrane expression of C3bi but not C3b receptors on neonatal neutrophils. *Pediatr Res*. 1987, *21*(3), S.306-11,
- 129 Kolben M; Fischbach F; Hofmeister H; Pache L; Graeff H: Importance of plasma PMN granulocyte elastase concentration determination in pregnant patients with premature rupture of fetal membranes. *Geburtsh-Frauenheilk*. 1993, *53*, S.81-5,
- 130 Hirano T: In *Peptide Growth Factors and their Receptors* IM B and A B Roberts, eds. Springer Verlag. 1990, S.663,

- 131 De Bont E S; de-Leij L H; Okken A; Baarsma R; Kimpen J L: Increased plasma concentrations of interleukin-1 receptor antagonist in neonatal sepsis. *Pediatr Res.* 1995, 37, S.626-9,
- 132 Hack C E; De Groot E R; Felt Bersma; R J F: Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood.* 1989, 74, S.1704-1710,
- 133 Kaye J; Janeway C A Jr.: Induction of receptors for interleukin 2 requires T cell Ag:Ia receptor crosslinking and interleukin 1. *Lymphok Research.* 1984, 3, S.195-82,
- 134 Pourcyrous M; Korones S B; Bada H S; Patterson T; Baselski V: Indwelling umbilical arterial catheter: A preferred sampling site for blood culture. *Pediatrics.* 1988, 81, S.821-825,
- 135 Adinolfi M: Infections diseases in pregnancy, cytokines and neurological impairment: an hypothesis. *Dev Med Child Neurol.* 1993, 35, S.549-553,
- 136 Fortunato S J; Menon R P; Swan K F, Menon R: Inflammatory cytokine (interleukin 1, 6 and 8 and tumor necrosis factor-alpha) release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysacccharide mirrors amniotic fluid concentrations. *Am J Obstet Gynecol.* 1996, 174, S.1855-60,
- 137 Tosato G; Pike S E: Interferon-beta/interleukin-6 is a costimulant for human T lymphocytes. *J Immunol.* 1988, 141, S.1556-1562,
- 138 Herrmann F; Oster W; Meuer S C; Lindemann A; Mertelsmann R H: Interleukin 1 stimulates T lymphocytes to produce granulocyte-monocyte colony-stimulating factor. *Clin Invest.* 1988, 81, S.1415-8,
- 139 Dinarello C A: Interleukin-1. *Reviews of Infectious Diseases.* 1984, 6, S.51-95,
- 140 Dinarello C A: Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood.* 1991, 77, S.1627-1652,
- 141 Dinarello C A: Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *New Engl J Med.* 1984, 311, S.1413 1418,
- 142 Ikejima T; Okusawa S; Ghezzi P; van der Meer J W M; Dinarello C: Interleukin-1 induces tumor necrosis factor (TNF) in human peripheral blood mononuclear cells in vitro and a circulating TNF-like activity in rabbits. *J Infect Dis.* 1990, 162, S.215-223,
- 143 Waage A; Espevik T: Interleukin-1 potentiates the lethal effect of tumor necrosis factor alpha/cachectin in mice. *J Exp Med.* 1988, 167, S.1987-1992,
- 144 Fisher E; Marano M A; v Zee K J; Rock C S; Hawes A S; Thompson W A, De Forge L; Kenney J S; Remick D G; Bloedow D C; Thompson R C; Lowry S F; Moldawer L L: Interleukin-1 receptor blockade improves survival and hemodynamic performance in Echerichia coli septic shock, but fails to alter host responses to sublethal endotoxemia. *J Clin Invest.* 1990, 89, S.1551-1557,
- 145 Sapolski R; Rivier C; Yamamoto G; Plotsky P; Vale W: Interleukin-1 Stimulates the Secretion of Hypothalamic Corticotropin-Releasing Factor . *Science.* 1987, 238, S.522-524,
- 146 Bendtzen K: Interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor in infection, inflammation and immunity. *Immunol Lett.* 1988, 19, S.183-92,
- 147 Miki S; Iwano M; Miki Y; Yamamoto M; Tang B; Yokokawa K: Interleukin-6 (IL-6) functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *FEBS Lett.* 1989, 250, S.607-610,
- 148 Hirano T: Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 1992, 62, S.60-5,
- 149 Yoon B H; Romero R; Yang S H; Jun J K; Kim I O; Choi J H; Syn H C: Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol.* 1996, 174, S.1433-1440,
- 150 Singh B; Merchant P; Walker C R; Kryworuchko M; Diaz-Mitoma F: Interleukin-6 expression in cord blood of patients with clinical chorioamnionitis. *Pediatr Res.* 1996, 39, S.976-9,

- 151 Panero A; Pacifico L; Rossi N; Mancuso G; Stegagno M; Chiesa C: Interleukin-6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1997, **16**, S.370-5,
- 152 Mitchell M; Dudley D J; Edwin S S; Lundin-Schiller S: Interleukin-6 stimulates prostaglandin production by human amnion and decidua cells. *Eur J Pharmacol.* 1991, **192**, S.189-191,
- 153 Le J; Vilcek J: Interleukin-6: a multifunctional cytokine regulating immune reactions and the acute phase protein response. *Lab Invest.* 1989, **61**, S.588-602,
- 154 Buck C; Bundschu J; Gallati H; Bartmann P; Pohlandt F: Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics.* 1994, **93(1)**, S.54-8,
- 155 Shimoya K; Matsuzaki N; Taniguchi T; Jo T; Saji F; Kitajima H; Fujimura M; Nakayama M; Tanizawa O: Interleukin-8 in cord sera: a sensitive and specific marker for the detection of preterm chorioamnionitis. *J Infect Dis.* 1992, **165**, S.957-960,
- 156 Shimoya K; Matsuzaki N; Tanaguchi T; Okada T; Saji F; Murata Y: Interleukin-8 level in maternal serum as a marker for screening of histological chorioamnionitis at term. *Int J Gyn Obstet.* 1997, **57**, S.153-9,
- 157 Laham N; Brennecke S P; Rice G E: Interleukin-8 release from human gestational tissue explants: the effects of lipopolysaccharide and cytokines. *Biol Reprod.* 1997, **57**, S.616-20,
- 158 Averbuch B; Mazor M; Shoham-Vardi; Chaim W; Vardi H; Horowitz S; Shuster M: Intra-uterine infection in women with preterm premature rupture of membranes: maternal and neonatal characteristic. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1995, **62(1)**, S.25-9,
- 159 Joesoef M R; Hillier S L; Wiknjosastro G; Sumampouw H; Linnan M; Norojono W; Idjadi A; Utomo B: Intravaginal clindamycin treatment for bacterial vaginosis: effects on preterm delivery and low birth weight. *Am J Obstet Gynecol.* 1995, **173**, S.1527-31,
- 160 Romero R; Roslansky P; Oyarzum E et al: Labor and infection. II Bacterial endotoxin in amniotic fluid and its relationship to the onset of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1988, **158**, S.1044-1049,
- 161 Nylen E S; Jeng J; Jordan M H; Snider R H; Thompson K A; Lewist M S; O'Neill W J; Becker K L: Late pulmonary sequela following burns: persistence of hyperprocalitonemia using a 1-57 amino acid N-terminal flanking peptide assay. *Resp Med.* 1995, **186**, S.41-46,
- 162 Simon C; Mercader A; Portoles E; Frances A; Pellicer: Le système Interleukine-1 au cours de l'implantation dans l'espèce humaine. *Contracept Fertil Sex.* 1995, **23**, S.626-30,
- 163 Howatson A G; Farquharson M; Meager A; McNicol A M; Foulis A K: Localization of alpha-interferon in the human feto-placental unit. *J Endocrinol.* 1988, **119**, S.531-4,
- 164 Kaapa P; Koistinen E: Maternal and neonatal C-reactive protein after interventions during delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1993, **72**, S.543-6,
- 165 Buonocore G; de Filippo M; Gioia D; Picciolini E; Luzzi E; Bocci V; Bracci R: Maternal and neonatal plasma cytokine levels in relation to mode of delivery. *Biol Neonate.* 1995, **68**, S.104-110,
- 166 Lencki S G; Maciulla M B; Eglinton G S: Maternal and umbilical cord serum interleukin levels in preterm labor with clinical chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynaecol.* 1995, **170**, S.1345-51,
- 167 Yoon B H; Yang S H; Jun J K; Park K H; Kim C J; Romero R: Maternal blood C-reactive protein, white blood cell count, and temperature in preterm labor: a comparison with amniotic fluid white blood cell count. *Obstet Gynecol.* 1996, **87**, S.231-7,
- 168 Churgay C A; Smith M A; Blok B: Maternal fever during labor—what does it mean?. *J-Am-Board-Fam-Pract.* 1994, **7**, S.14-24,
- 169 Grether J K; Nelson K B: Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight [see comments. *JAMA.* 1997, **278**, S.207-11,
- 170 Dammann O; Leviton A: Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr-Res.* 1997, **42**, S.1-8,

- 171 Gendrel D; Raymond J, Assicot M: Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial and viral meningitis. *Clin Infect Dis.* 1997, 24, S.1240-1242,
- 172 Hillier S L; Krohn M A; Kiviat N B; Watts D H; Eschenbach D A: Microbiologic causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1991, 165, S.955-61,
- 173 Dejana E; Breviario F; Erroi A; Bussolino F; Mussoni L; Gramse M; Pintucci G; Casali B; Dinarello C A; van Damme J et al: Modulation of endothelial cell functions by different molecular species of interleukin. *Blood* . 1987, 69, S.695-9,
- 174 Cerretti D P; Kozlosky C J; Mosley B; Nelson N; van Ness K; Greenstreet T A; Maech C J; Kronhein S R; Druck T; Cannizzaro L A: Molecular cloning of the interleukin-1beta converting enzyme. *Science* . 1992, 256, S.97-100,
- 175 Alden E R; Madelkorn T; Woodrum D E; Wennber R P: Morbidity and mortality of infants weighing less than 1000 g in an intensive care nursery. *Pediatrics.* 1972, 50, S.40-44,
- 176 Ferrari B; Tonni G; Luzietti R; Ciarlini G; Vadora E; Merialdi A: Neonatal complications and risk of intraventricular-periventricular hemorrhage. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1992, 19, S.253-8,
- 177 Miller L C; Gail LoPreste S I; Schaller J G; Dinarello C A: Neonatal interleukin-1-b, interleukin-6 and tumor necrosis factor: Cord blood levels and cellular production. *J Pediatr.* 1990, 117, S.961-5,
- 178 Driggers D A; Deiss F; Swedberg J; Johnson R B; Steiner J F: Neonatal sepsis. *Am Fam Physician.* 1985, 32, S.129-34,
- 179 Simon C; Schroder H; Beyer C; Zerbst T: Neonatal sepsis in an intensive care unit and results of treatment. *Infection.* 1991, 19, S.146-9,
- 180 Erikson M: Neonatal septicemia. *Acta Paediat Scand.* 1983, 72, S.1,
- 181 Karitzky D; Kampmann B; Gauchel F D: Neonatal septicemia and bacterial neonatal infection. Manifestation and course in early antibiotic therapy. *Geburtshilfe-Frauenheilkd.* 1986, 46, S.37-42,
- 182 Özdemir A; Oygür N; Gültekin M; Coskun M; Yegin O: Neonatal Tumor Necrosis Factor, Interleukin -1-a, Interleukin-1-b and Interleukin-6 Response to Infection. *Am J Perinatol.* 1994, 11, S.282-5,
- 183 Bazan J F: Neuropoetic cytokines in the hematopoietic fold. *Neuron.* 1991, 7(2), S.197-208,
- 184 Roberts RL; Szlec CM, Scates SM, Boyd MT, Soderstrom KM, Davis MW, Glaspy JA: Neutropenia in an extremely premature infant treated with rhG-CSF. *Am J Dis Child.* 1991, 145, S.808-812,
- 185 Blanc W A: Pathways of fetal and early neonatal infection, viral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis. *Pediatr.* 1961, 59, S.473-496,
- 186 Motro B; Itin A; Sachs L; Keshet E: Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990, 87, S.3092-3096,
- 187 Cebon J; Dempsey P, Fox R, Kannourakis G, Bonnem E, Burgess AW, Mortsyn G: Pharmacokinetics of human GM-CSF using a sensitive immunoassay. *Blood.* 1988, 72, S.1340-1347,
- 188 Castell J V; Geiger T; Gross V et al: Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte stimulating factor in the rat. *Eur J Biochem.* 1988, 177, S.357-361,
- 189 Shimada M; Minato M; Takada M, Takahashi S; Harada K: Plasma concentration of granulocyte-colony-stimulating factor in neonates. *Acta Paediatrica.* 1996, 85, S.351-5,
- 190 Russel A R; Davis E G; McGuigan S; Scopes G J D; Daly S; Gordan-Smith E C: Plasma granulocyte-colony stimulating factor concentrations (G-CSF) in the early neonatal period. *Brit J Haem.* 1994, 86, S.642-644,

- 191 Rubatelli A; Bajetto A; Allavena G; Cozzolino F; Sitia R: Post-translational regulation of interleukin 1 beta secretion. *Cytokine*. 1993, 5, S.117-24,
- 192 Gery I; Gershow R K; Waksman B H: Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. I. The responding cell. *J Exp Med*. 136, S.128-42,
- 193 Edgar J D; Wilson D C; McMillan S A; Crockard A D; Halliday M I; Gardiner K R; Rowlands B J; Halliday H L; McNeill T A: Predictive value of soluble immunological mediators in neonatal infection. *Clin Sci Colch*. 1994, 87, S.165-71,
- 194 Chua S; Arulkumaran S; Sailesh-Kumar S; Selamat N; Ratnam S S: Prelabour rupture of membranes to delivery interval related to the incidence of maternal and neonatal infection. *J-Obstet-Gynaecol*. 1995, 21, S.367-72,
- 195 Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H, Tolosa J E, Rojas I: Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and the role of cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol*. 1995, 22, S.281-342,
- 196 Berry S M; Romero R; Gomez R; Puder K S; Ghezzi F; Cotton D B; Bianchi D W: Premature parturition is characterized by in utero activation of the fetal immune system [see comments]. *Am J Obstet Gynecol*. 1995, 173(4), S.1315-20,
- 197 Miller J M Jr; Brazy J E; Gall S A; Crenshaw M C Jr; Jalovsek F R: Premature rupture of the membranes: material and neonatal infectious morbidity related to betamethasone and antibiotic therapy. *J Reprod Med*. 1980, 25, S.25: 173,
- 198 Leviton A: Preterm birth and cerebral palsy: is tumor necrosis factor the missing link?. *Dev Med Child Neurol*. 1993, 35, S.553-558,
- 199 Seo K; McGregor J A; French J J: Preterm birth is associated with increased risk of maternal and neonatal infection. *Obstet Gynecol*. 1992, 79, S.75-80,
- 200 Ramadori G; Sipe J D; Dinarello C A; Mizel S B; Colten H R: Pretranslation modulation of acute phase hepatic protein synthesis by murine recombinant Interleukin 1 (IL-1) and purified human IL-. *J Exp Med*. 1985, 162, S.930-42,
- 201 Eisenberg S P; Evens R J; Arend W P; Verderber E; Brewer M T; Hannum C H; Thompson R C: Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature*. 1990, 343, S.341-4,
- 202 Gendrel D; Bouhon C: Procalcitonin a marker of bacterial infection. *Infection*. 1997, 25, S.133-134,
- 203 Dandona P; Nix D, Wilson M F, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C: Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997, 79, S.1605-1608,
- 204 Staehler M; Hammer C, Meiser B: Procalcitonin: a new marker for differential diagnosis of acute rejection and bacterial infection in heart transplantation. *Transplant Proc*. 1997, 29, S.584-585,
- 205 Ishii E; Masuyama T; Yamaguchi H; Saito S; Irie K; Nomiya M; Motoyoshi K; Miyazaki S: Production and expression of granulocyte- and macrophage-colony-stimulating factors in newborns; their roles in leukocytosis at birth. *Acta Haematol*. 1995, 94, S.23-31,
- 206 Li Y; Calhoun D A; Polliotti B M; Sola M C; al-Mulla Z; Christensen R D: Production of granulocyte colony-stimulating factor by the human placenta at various stages of development. *Placenta*. 1996, 17, S.611-7,
- 207 Liechty K W; Koenig J M; Mitchell M D; Romero R; Christensen R D: Production of interleukin-6 by fetal and maternal cells in vivo during intraamniotic infection and in vitro after stimulation with interleukin-1. *Pediatr Res*. 1991, 29, S.1-4,
- 208 Kameda T; Matsuzaki N; Sawai K; Okada T; Saji F; Matsuda T; Hirano T; Kishimoto T; Tanizawa O: Production of interleukin-6 by normal human trophoblast. *Placenta*. 1990, 11, S.205-13,

- 209 Williams P A; Bohnsack J F; Augustine N H; Drummon W K; Rubens C E; Hill H R: Production of tumor necrosis factor by human cells in vitro and in vivo, induced by group B streptococci. *J Pediatr.* 1990, *123*, S.292-300,
- 210 Oppenheim J J; Zachariae C O; Mukaida N; Matsushima K: Properties of the novel proinflammatory supergene „intercrine“ cytokine family. *Annual Review of Immunology.* 1991, *9*, S.617-48,
- 211 Romero R; Emamian M; Wan M: Prostaglandin concentrations in amniotic fluid of women with intra-amniotic infection and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1987, *157*, S.1461-1467,
- 212 Hazuda D; Webb R L; Simon P; Young P: Purification and characterisation of human recombinant precursor interleukin 1 beta. *J Biol Cehm.* 1989, *264*, S.1689-93,
- 213 Fukunaga R; Ishizaka-Ikeda E; Nagata S: Purification and characterization of the receptor for murine granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem.* 1990, *265*, S.14008-15,
- 214 Kutteh W H, Rainey W E, Carr B R: Regulation of interleukin 6 production in human fetal Kupffer cells. *Scand J Immunol.* 1991, *33*, S.607-13,
- 215 Navarro S; Debili N; Bernaudin J F; Vainchenker W; Doby J: Regulation of the expression of IL-6 in human monocytes. *J Immunol.* 1989, *142*, S.4339-45,
- 216 Mazor M; Kassis A; Horowitz S: Relationship between C-reactive protein levels and intra-amniotic infection in woman with preterm labor. *J Reprod Med.* 1993, *38*, S.799-803,
- 217 Matsuda Y; Maruyama H; Kuraya K: Relationship between granulocyte elastase levels and perinatal infections. *Gynecol Obstet Invest.* 1995, *39*, S.162-6,
- 218 Potter N T; Kosuda L; Bigazzi P E; Fleming A D; Vintzileos A M; Homon C; Salafia C: Relationships among cytokines (IL-1, TNF and IL-8) and histologic markers of acute intrauterine infection. *J Mat Fet Med.* 1992, *1*, S.142-147,
- 219 Chiesa C; Panero A, Rossi N, Stegagno M., De Guisti M, Osborn JF, Pacifico L: Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis.* 1998, *26*, S.664-672,
- 220 Taub D D; Oppenheim J J: Review of the chemokine meeting the Third International Symposium of Chemotactic Cytokines. *Cytokine.* 1993, *5*, S.175-9,
- 221 Soman M; Green B; Dailing: Risk factors for early neonatal sepsis. *Am J Epidemiol.* 1985, *121*, S.712-9,
- 222 Yancey M K; Duff P; Kubilis P; Clark P; Frentzen B H: Risk factors for neonatal sepsis. *Obstet Gynecol.* 1996, *87*, S.188-94,
- 223 Cairo M S; Worcester C; Rucker R; Bennetts G A; Amlie R; Perkin R; Anas N; Hicks D: Role of circulating complement and polymorphonuclear leukocyte transfusion in treatment and outcome in critically ill neonates with sepsis. *J Pediatr.* 1987, *110*, S.935-41,
- 224 Mancuso G; Cusumano V; Genovese F; Gambuzza M; Beniati C; Teti G: Role of interleukin 12 in experimental neonatal sepsis caused by group B streptococci. *Infect Immun.* 1997, *65*, S.3731-5,
- 225 Benuck I; David R J: Sensitivity of published neutrophil indexes in indentifyin newborn infants with sepsis. *J Pediatr.* 1984, *103*, S.961-963,
- 226 Gerdes J S; Polin R A: Sepsis screen in neonates with evaluation of plasma fibronectin. *Pediatr Infect Dis J.* 1987, *6*, S.443-6,
- 227 Glauser M P; Zanetti G; Baumgartner J D; Cohen J: Septic shock: pathogenesis. *Lancet.* 1991, *338*, S.732-36,
- 228 Gessler P; Kirchmann N; Kientsch-Engel R; Haas N; Lasch P; Kachel W: Serum concentrations of granulocyte colony-stimulating factor in healthy term and preterm neonates and in those with various diseases including bacterial infections. *Blood.* 1993, *82*, S.3177-82,

- 229 Nijsten M W N; De Grott E R; Ten Duis H J; Klasen H J; Hack C E; Aarden L A: Serum levels of interleukin-6 and acute phase responses. *Lancet*. 1987, S.921,
- 230 Davis T M E; Assicot M, Bohoun C, St.John A, Li G Q, Anh T K: Serum procalcitonin concentrations in acute malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994, 88, S.670-673,
- 231 Zeni F; Viallon A, Assicot M, Tardy B, Vinimian M, Page Y, Lafond P, Bertrand J C, Bohoun C: Serum procalcitonin in sepsis: relation to severity and cytokines (TNF, IL-6, IL-8). 34 th ICAAC. 1994,
- 232 Girardin E P; Berner M E; Grau G E; Suter S; Lacourt G; Paunier L: Serum tumour necrosis factor in newborns at risk for infections. *Eur J Pediatr*. 1990, 149, S.645-647,
- 233 Kitajima H; Nakayama M; Miyano A; Shimizu A; Taniguchi T; Shimoya K; Matsuzaki N; Fujimura M: Significance of Chorioamnionitis. *Early Hum Developm*. 1992, 29, S.125-130,
- 234 Pourcyrous M; Bada H S; Korones S B; Basalski V; Wong S P: Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal infection and other disorders [see comments]. *Pediatrics*. 1993, 92, S.431-5,
- 235 Lamont R F; Taylor-Robinson D; Newman M; Wigglesworth J; Elder M G: Spontaneous early preterm labour associated with abnormal genital bacterial colonization. *Br J Obstet Gynaecol*. 1986, 93, S.804-10,
- 236 Gabrilove J L; Withe K; Rahman Z; Wilson E L: Stem cell factor and basic fibroblast growth factor are synergistic in augmenting committed myeloid progenitor cell growth. *Blood*. 1994, 83, S.907-10,
- 237 Holmes W E; Lee J; Kuang W J; Rice G C; Wood W I: Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor. *Science*. 1991, 253, S.1278-80,
- 238 Giri J G; Lomedico P T; Mizel S B: Studies in the synthesis and secretion of interleukin 1. I. A. 33,000 molecular weight precursor for interleukin 1. *J Immunol*. 1985, 314-9, S.343,
- 239 Hodge S; Hodge G; Flower R; Han P: Surface activation markers of T lymphocytes: role in the detection of infection in neonates. *Clin Exp Immunol*. 1998, 113, S.33-8,
- 240 Baumann H; Held W A; Berger F G: The acute response of mouse liver. Genetic analysis of the major acute phase response. *J. Biol. Chem*. 1984, 259(1), S.566-73,
- 241 Guzik D S; Winn K: The association of chorioamnionitis with preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 1985, 65, S.11-6,
- 242 Watts D H; Krohn M A, Hillier S L, Eschenbach D A: The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol*. 1992, 79, S.351-7,
- 243 Kishimoto T: The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989, 74, S.1-10,
- 244 Yachie A; Takano N; Yokoi T; Kato K; Kasahara Y; Miyawaki T; Taniguchi: The capability of neonatal leukocytes to produce IL-6 on stimulation assessed by whole blood culture. *Pediatr Res*. 1990, 27, S.227-233,
- 245 Buckle AM; Hogg N: The effect of INF and colony stimulating factors on the expression of neutrophil cell membrane receptors. *J Immunol*. 1989, 143, S.2295-2301,
- 246 Jaswon M S; Jones H M; Linch D: The effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor on the neutrophil respiratory burst in the term und preterm infant when studied in whole blood. *Pediatr Res*. 1994, 36, S.623-7,
- 247 Taniguchi T; Matsuzaki N; Kameda T; Shimoya K; Jo T; Saji F; Tanizawa O: The enhanced production of placental Interleukin-1 during labor and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1991, 165, S.131-7,
- 248 Paneth N; Pinto-Martin J: The epidemiology of germinal matrix/intraventricular hemorrhage. *Reproductive and Perinatal Epidemiology*. 1990, S.371-399,

- 249 Zipursky A; Palko J; Milner R et al: The hematology of bacterial infections in premature infants. *Pediatr.* 1976, *57*, S.839-853,
- 250 Emery P; Salmon M: The immune response, 2: systemic mediators of inflammation. *Br J Hosp Med.* 1991, *45*, S.164-168,
- 251 Singer J M; Plotz C M: The latex fixation test. Application of the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Med.* 1956, S.888-892,
- 252 Raub B; Steinbach G, Gansauge F: The potential role of procalcitonin and interleukin 8 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. *Gut.* 1997, *41*, S.832-840,
- 253 Goldenberg R L; Thom E; Moawad A H; Johnson F; Roberts J; Caritis S N: The preterm prediction study: fetal fibronectin, bacterial vaginosis, and peripartum infection. NICHD Maternal Fetal Medicine Units Network. *Obstet Gynecol.* 1996, *87*, S.656-60,
- 254 Dinarello C A: The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of septic shock syndrome. *J Infect Dis.* 1991, *163*, S.1177-1184,
- 255 Hillier S L; Witkin S S; Krohn M A; Watts D H; Kiviat N B; Eschenbach D A: The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histologic chorioamnionitis, and chorioamnion infection. *Obstet Gynecol.* 1993, *81*, S.941-948,
- 256 Kanayama N; Terao T; Horiuchi: The role of human neutrophil elastase in the premature rupture of membranes. *Asia Oceania J Obstet Gynecol.* 1988, *14*, S.389-397,
- 257 Dinarello C A; Wolff S M: The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 1993, *328*, S.106-13,
- 258 Balk R A; Bone R C: The septic syndrome: Definition and clinical implications. *Crit Care Clin.* 1989, *5*, S.1-8,
- 259 Riesenberger K; Egarter C; Vogel S; Sternberger B; Kiss H; Husslein P: The transfer of interleukin-8 across the human placenta perfused in vitro. *Obstet-Gynecol.* 1996, *87*, S.613-6,
- 260 Kawamura M; Nishida H: The usefulness of serial C-reactive protein measurement in managing neonatal infection. *Acta Paediatr.* 1995, *84*, S.10-3,
- 261 Coultrip L L; Lien J M; Gomez R; Kapernick P; Khoury A; Grossman J H: The value of amniotic fluid interleukin-6 determination in patients with preterm labor and intact membranes in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 1994, *171*, S.901-11,
- 262 Seibert K; Yu V Y; Doery J C; Embury D: The value of C-reactive protein measurement in the diagnosis of neonatal infection. *J Paediatr Child Health.* 1990, *26*, S.267-70,
- 263 Ichijo M: The viewpoints of viral vertical transmission from fetal neonatal immunologic aspects Nippon-Sanka-Fujinka-Gakkai-Zasshi. *Acta Obstet Gynaecol Jap.* 1995, *47*, S.713,
- 264 Arntzen K J; Kjollesdal A M; Halgunset J; Vatten L; Austgulen R: TNF, IL-1, IL-6, IL-8 and soluble TNF receptors in relation to chorioamnionitis and preterm labour. *J. Perinat. Med.* 1998, *26*, S.17-26,
- 265 Cotch M F; Pastorek J G-2nd; Nugent R P; Hillier S L; Gibbs R S; Martin D H; Eschenbach D A; Edelman R; Carey J C; Regan J A; Krohn M A; Klebanoff M A; Rao A V; Rhoads G G: *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group [see comments]. *Sex-Transm-Dis.* 1997, *24*, S.353-60,
- 266 Weatherstone K B; Rich E A: Tumor necrosis factor / cachectin and interleukin-1 secretion by cord blood monocytes from premature and term neonates. *Pediatr Res.* 1989, *25*, S.342-346,
- 267 Girardin E; Grau G E; Dayer J M; Roux-Lombard P: Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N Engl J Med.* 1988, *319*, S.397-400,

- 268 Opson S L; Wathen N C; Tingulstad S; Wiedswang G; Sundan A; Waage A; Austgulen R: Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1993, *169*, S.397-404,
- 269 De Bont E S J M; Martens A; van Raan J et. al: Tumour necrosis factor- α , interleukin-1- β , and interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis. *Pediatr Res.* 1993, *33*, S.380-3,
- 270 Weeks J W; Reynolds L; Taylor D; Lewis J; Wan T; Gall S A: Umbilical cord blood interleukin-6 levels and neonatal morbidity. *Obstet Gynecol.* 1997, *90*, S.815-8,
- 271 Eberhard O K; Haubitz M, Brunkhorst F M: Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease and invasive bacterial infection. *Arthritis Rheum.* 1997, *40*, S.1250-1256,
- 272 Abele-Horn M; Peters J; Genzel-Boroviczeny O; Wolff C; Zimmermann A; Gottschling W: Vaginal *Ureaplasma urealyticum* colonization: influence on pregnancy outcome and neonatal morbidity. *Infection* . 1997, *25*(5), S.286-91,
- 273 Faro S: Vaginitis and pregnancy. *J Reprod Med.* 1989, *34*, S.602-4,
- 274 Samperiz S; Millet V; Lacroze V; Unal D: Valeur diagnostique du dosage de l'élastase granulocytaire au sang du cordon ombilical chez des nouveau-nés en situation de risque d'infection maternofoetale. *Arch Pediatr.* 1997, *4*, S.406-10,
- 275 Salzer H R; Pollak A; Herkner K; Weninger M; Schemper W: Value of measurement of neutrophil elastase- α 1 proteinase inhibitor levels in the early diagnosis of neonatal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1993, *12*, S.553-6,
- 276 Maeda K; Matsuzaki N, Fuke S; Mitsuda N; Shimoya K; Nakayama M; Suehara N, Aono T: Value of the maternal interleukin 6 level for determination of histologic chorioamnionitis in preterm delivery. *Gynecol Obstet Investig.* 1997, *43*, S.225-31,
- 277 Steinborn A; Gatje R; Kramer P; Kuhnert M; Halberstadt E: Zytokine in der Diagnostik des Amnioninfektionssyndromes. *Z Geburtsh Perinatol.* 1994, *198*, S.1-5,

Danksagung

Für seine großzügige Unterstützung und seine intensive Begleitung darf ich mich bei meinem Chef und Lehrer Herrn Prof. Dr. J.W. Dudenhausen bedanken. Seine Tatkraft bereitete den Nährboden für die vorliegende Arbeit. Seine kritische Anteilnahme und seine Ausdauer waren maßgeblich am Abschluß dieser Schrift beteiligt.

Die Arbeit hätte nicht entstehen können ohne die Hilfe und das Verständnis meiner Frau Petra und meiner Söhne Hans und Anton. Ihnen danke ich ganz herzlich.

Herrn Dr. C. Müller, Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Charité Campus Virchow-Klinikum, Herrn Prof. Dr. Renz, Direktor des Institutes für Klinische Chemie und Labordiagnostik, Universitätsklinikum Marburg, Herrn Prof. Dr. Obladen, Direktor der Klinik für Neonatologie, Charité Campus Virchow-Klinikum und Prof. Dr. Vogel, Leiter der Abteilung für Paidopathologie, Charité Campus Virchow-Klinikum danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit und die konstruktiven Beiträge.

Für seinen hohen Einsatz in der Umsetzung der begleitenden Studien und der Unterstützung in statistischen Fragen bedanke ich mich bei meinem Freund und wissenschaftlichen Mitarbeiter Dr. F.C.K. Chen.

Den Doktoranden H. Jänz, C. Schaffer, J. Monheim, A. Quante und E. v. Hollatz danke ich für ihren unermüdlichen Einsatz im Kreißsaal und im Labor.

Den MTLA Frau Carandang, Frau Marksteiner und Frau Konakovski danke ich für Ihre Unterstützung im Labor der Klinik für Geburtsmedizin

Einen aufrichtigen Dank möchte ich an dieser Stelle den ärztlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, sowie dem medizinischen Assistenzpersonal der Klinik für Geburtsmedizin, Charité, Campus Virchow-Klinikum aussprechen.

Eidstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß

1. Keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren anhängig sind,
2. Weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. Welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
3. Die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
4. Der Bewerberin oder dem Bewerber die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, der 4.9.2000

Prof. Dr. Ulrich Büscher